

Rec'd PCT/PTO 15 APR 2005

PCT/IB 03 / 0 4 6 4 6

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
NATIONAL BOARD OF PATENTS AND REGISTRATION

Helsinki 29.10.2003

10/26.11.03  
531464

ETUOIKEUSTODISTUS  
PRIORITY DOCUMENT

REC'D 05 DEC 2003

WIPO

PCT



Hakija  
Applicant

Bio-Nobile Oy  
Masku

Patenttihakemus nro  
Patent application no

20021870

Tekemispäivä  
Filing date

18.10.2002

Kansainvälinen luokka  
International class

B03C

Keksinnön nimitys  
Title of invention

"Magneettinen siirtomenetelmä ja mikropartikkelien siirtolaite"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä ja piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the description and drawings originally filed with the Finnish Patent Office.

*Pirjo Kaila*  
Pirjo Kaila  
Tutkimussihteeri

BEST AVAILABLE COPY

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Maksu 50 €  
Fee 50 EUR

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001 Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry No. 1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500 Telefax: 09 6939 5328  
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500 Telefax: + 358 9 6939 5328  
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

## MAGNEETTINEN SIIRTOMENETELMÄ JA MIKROPARTIKKELIEN SIIRTOLAITE

### KEKSINNÖN TAUSTA

Keksinnön kohteena on magneettinen siirtomenetelmä ja mikropartikkelien siirtolaite.

- 5
- Magneetin avulla siirrettäviä mikropartikkeleita on paljon erilaisia ja sovellukset, joissa niitä käytetään vaihtelevat myös paljon. Mikropartikkeleilla tai magneettipartikkeleilla tarkoitetaan tässä kaikkia sellaisia partikkeleita tai pieniä hiukkasia, joita voidaan liikuttaa magnetismin avulla. Sellaisia ovat esimerkiksi magneettihukkaset ja ferromagneettista, 10 paramagneettista tai supramagneettista materiaalia sisältävät hiukkaset. Hiukkasten käsittelyllä tarkoitetaan kaikkea niiden liikkeisiin liittyvää toimintaa, kuten esimerkiksi partikkelien lajittelemista, keräämistä, siirtämistä tai annostelua, joko samassa nesteessä tai nesteestä toiseen.
- 15 Mikropartikkelien käsittelyyn tarkoitettussa laitteessa on magnetismia hyväksi käytävä elin, josta on seuraavassa käytetty nimitystä magneetti. Se voi olla kestromagneetti tai sähkömagneetti, joka vetää ferromagneettisia hiukkasia puoleensa, tai ferromagneettinen kappale, joka ei itse ole magneettinen, mutta vetää silti magneettisia hiukkasia puoleensa.
- 20 Magneetti on tavallisesti edullisimmin pyöreä tankomagneetti. Se voi olla myös muun muotoinen tanko. Magneetin ei kuitenkaan tarvitse olla tanko lainkaan. Se voi olla myös lyhyt ja leveä, tai minkä muotoinen kappale tahansa. Magneetin päällä on oltava suoja, joka suojaa magneettia erilaisilta haitallisilta olosuhteilta ja mahdollistaa mikropartikkelien käsittelyn, kuten sitomisen ja vapauttamisen. Suojuksen rakenne voi vaihdella suuresti, 25 sillä se voi olla esimerkiksi joustavaa materiaalia oleva ohut kalvo tai vaikka kovamuovia oleva kuppi.
- Yleisesti partikkeleita käytetään kiinteänä faasina (engl. solid phase) sitomaan erilaisia biomolekyylejä, soluorganelleja, bakteereja tai soluja. Partikkeloiden pinnalle voidaan myös 30 immobilisoida esimerkiksi entsyymejä, jolloin entsyymien käsittely ja jatkokäyttö on tehokasta. Useimmat nk. magneettiset nanopartikkelit (< 50 nm) eivät sovellu tavallisilla kestromagneeteilla tai sähkömagneeteilla käsiteltäviksi vaan vaativat erityisen voimakkaan magneettigradientin käyttämistä, kuten on esitetty julkaisussa EP 0842704 (Miltäni Biotec). Tavallisilla kesto- ja sähkömagneeteilla voidaan käsitellä magneettipartikkeleita, 35 jotka ovat noin 0,1 mikrometriä tai suurempia halkaisijaltaan. Näytteen viskositeetti voi myös vaikeuttaa partikkeleitten poimimista merkittävästi. Kerättävät partikkelit voivat olla alunperin suspendoitu isoon nestemäärään, josta halutaan sitoa tutkittavaa ainetta tai

vaikkapa soluja partikkeleitten pinnalle. Erityisen tärkeää on voida käyttää isoja lähtötilavuuksia sovelluksissa, joista vähälukuiset komponentit halutaan saada eristettyä analysointia varten. Esimerkiksi patogeenisten bakteerien tehokas rikastaminen suuresta näytetilavuudesta pieneen on kriittinen koska vaikuttaa suoraan määrityksen herkkyyteen ja analyysiaikaan. Tällä hetkellä ei ole olemassa riittävän tehokasta tapaa tehdä magneettipartikkellen avulla konsentrointia suuresta tilavuudesta pieneen tilavuuteen. Edullista olisi se, että edellä kuvatun kaltainen suoritus olisi mahdollisimman yksinkertainen ja tehokas.

## 10 TEKNIIKAN TASO

Magnetoitavia partikkeleita on käytetty jo 1970-luvulta lähtien. Tämä teknologia tuli hyvin suosituksi muun muassa immunomäärityksissä. Magnetoitavien partikkellen käyttämisellä immunomäärityksissä sitoutuneen antigeeni-vasta-aine kompleksin erottamiseksi vapaasta fraktiosta tarjosi merkittävän edun sekä reaktionopeudessa että erotuksen käytännöllisyydessä. Pääasiallinen kehitys magnetoitavien partikkellen hyväksikäytössä on viimeisten vuosien aikana tapahtunut molekyylibiologian ja solubiologian alueilla.

Reaktioliuoksessa olevat magneettipartikkelit, joihin biologinen aine, esimerkiksi solut, bakteerit, proteiinit tai nukleinihappo on sidottu, on perinteisessä menetelmässä reaktion jälkeen astian ulkopuolisen magneetin avulla vangittu tiettyyn kohtaan, jolloin liuos on mahdollista poistaa ilman että magneettiset partikkelit seuraavat mukana. Tässä menetelmässä käsitellään aktiivisesti nestettä ja magneettipartikkelit pysyvät samassa astiassa koko suorituksen ajan.

Toisessa lähestymistavassa magneettia aktiivisesti siirtämään magneettipartikkeleita. Magneetti vetää puoleensa magneettipartikkelit ja ne muodostavat kinteän saostuman. Nyt voidaan magneetti ja magneettipartikkelit nostaa pois nesteestä. Magneetti partikkeleineen voidaan tämän jälkeen upottaa toiseen koeputkeen, jossa on nestettä valmiina. Magneettipartikkelit voidaan irrottaa magneetista koeputkessa olevaan nesteeseen.

Patenttijulkaisussa US 2,517,325 (Lamb) kuvataan ratkaisu metalliesineiden poimimiseksi magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pitkä sauvamagneetti, jota liikutetaan rautaputken sisällä. Sauvamagneetin navat ovat fyysisen magneetin pituusaksella vastaisissa päissä. Liikuttamalla magneettia rautaputkessa sisäänpäin, voidaan magneettikenttää pienentää. Vastaavasti magneettia liikuttamalla ulos rautaputkesta magneettikenttä voimistuu. Julkaisussa kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalliesineitä magneettityksikön

kärkiosaan. Julkaisussa kuvataan myös kiinteä muovisuoja, jolla magneetti voidaan suojata.

Patenttijulkaisussa US 2,970,002 (Laviano) kuvataan ratkaisu metalliesineiden  
 5 keräämiseksi nesteistä magneetin avulla. Tässäkin patentissa kuvataan pitkä  
 kestopagneetti, joka kerää partikkeleita magneettiyksikön kärkiosaan. Magneetti on kiinni  
 metallitangossa ja suojattu erillisellä muovisuojalla. Julkaisussa esitetään kestopagneetin  
 liikuttamisen ja magneetin suojana käytettävän muovisuojan yhteiskäyttöä. Julkaisussa  
 kuvataan metalliesineiden kerääminen magneettiyksikön kärkiosaan ja metalliesineiden  
 10 vapautus suojan päältä erityisen muovisuojan muotoilun avulla.

Patenttijulkaisuissa US 3,985,649 (Eddelman), US 4,272,510 (Smith et al.), US 4,649,116  
 (Daty et al.), US 4,751,053 (Dodin et al.) ja US 5,567,326 (Ekenberg et al.) kuvataan  
 ratkaisuja, joissa kaikissa magneetilla kerätään magnetoitavaa materiaalia suoraan  
 15 liuksesta. Näille julkaisuille on yhteistä myös se, että magneetit eivät ole suojattu erillisillä  
 muovisuojuilla. Näissä ratkaisuissa edellytetään magneettikärjen pesua ennen seuraavan  
 näytteen käsittelyä kontaminaationriskin ja epäpuhtauksien siirtymiseffektin (engl. carry-over  
 effect) poistamiseksi.

20 Patenttijulkaisussa US 5,288,119 (Crawford, Jr. et al.) kuvataan ratkaisu, jolla voidaan  
 kerätä metalliesineitä magneetin avulla. Julkaisun mukaisen laitteen magneettia ei ole  
 suojattu erityisellä suojalla eikä se sovellu metalliesineiden poimimiseen nesteistä.  
 Julkaisussa kuvataan ratkaisu suurempien metalliesineiden poimimiseksi. Julkaisussa on  
 esitetty pitkä sauvamagneetti, jota liikutaan ei-magneettisen putken sisällä. Tämän putken  
 25 erityisominaisuus on se että se toimii magneettikentän estäjänä (engl. blocking) vaikka se  
 ei ole magneettinen. Julkaisussa esitetään vaihtoehtoisina materiaaleina tähän  
 tarkoitukseen esimerkiksi vismutti tai lyijy tai niiden seos. Ratkaisun mukaisen laitteen  
 magneetti ei ole suojattu erityisellä suojalla eikä se sovelletu metalliesineiden poimimiseen  
 nesteistä.

30 Hakemusjulkaisussa WO 87/05536 (Schröder) kuvataan muovisuojan sisällä liikutettavan  
 kestopagneetin käyttöä ferromagneettisen materiaalin keräämiseksi siitä sisältävästä  
 liuksesta. Magneetin ollessa ala-asennossa ferromagneettinen materiaali keräytyy  
 magneettiyksikön kärkiosaan. Julkaisussa kuvataan näin kerätyn ferromagneettisen  
 35 materiaalin siirtäminen toisessa astiassa olevaan liukseen ja materiaalin vapauttaminen  
 kärkiosasta sinne. Ferromagneettisen materiaalin vapauttaminen kuvataan suoritettavaksi

muovisensuojan muotoilun avulla, joka estää materiaalia liikkumasta magneettia liikutettaessa ylöspäin.

- Patenttijulkaisussa US 5,837,144 (Bienhaus et al.) kuvataan menetelmä,
- 5 magneettipartikkelien keräämistä erityisen muovisuojaalla varustetun magneetin avulla. Tässä julkaisussa kuvataan magneettipartikkelien sitominen liuoksesta, joka johdetaan astiasta pois erilaisin järjestelyin. Magneettia liikuttamalla voidaan magneettipartikkelit saada vapautumaan suojaikalvon päältä.
- 10 Patenttijulkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,040,192 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja sekä patenttihakemusjulkaisussa US 20010022948 (Tuunanen) kuvataan myös muovisuojaalla varustettuja laitteita magneettipartikkelien keräämiseksi liuoksesta ja siirtämiseksi toiseen liuokseen. Näissä julkaisuissa kuvataan pääasiallisesti ratkaisuja, joiden tarkoituksena on
- 15 käsitellä magneettipartikkeleita erittäin pienissä tilavuuksissa. Julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvataan laite, jolla magneettipartikkelit voidaan konsentroida aivan magneettiyksikön kärkeen. Julkaisussa US 6,020,211 (Tuunanen) kuvataan edellisessä julkaisussa esitettyä laitetta käytettäväksi yhdessä suuren nk. perinteisen magneetin avulla kerättyjen magneettipartikkelien siirtämiseen pienempiin astioihin. Julkaisussa US
- 20 6,040,192 (Tuunanen) kuvataan automatisoitu menetelmä magneettipartikkelien käytöstä spesifisissä määrityksissä ja pienten tilavuuksien käsittelyssä. Julkaisussa US 6,065,605 (Korpela et al.) jatketaan edelleen julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvatun ratkaisun soveltamista suurehkojen tilavuuksien käsittelyyn. Nyt kuvataan menetelmä, jossa magneettipartikkelit on ensin kerätty erityisellä ison magneetin sisältävällä
- 25 magneettiyksiköllä. Tämän jälkeen käytetään julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvattua magneettiyksikköä siirtämään magneettipartikkelipelletti eteenpäin pienempiin astioihin. Julkaisussa US 6,207,463 (Tuunanen) samaten sovelletaan edellä kuvattua magneettiyksikköä, jolla voidaan kerätä magneettipartikkeleita aivan laitteen kärkeen. Hakemusjulkaisu US 20010022948 (Tuunanen) kuvaa myös erittäin pienen
- 30 magneettipartikkelimäärän käsitlemistä erityisissä sille suunnitelluissa astioissa.

- Patenttijulkaisussa US 6,403,038 (Heermann) kuvataan laite, jossa on muovisuoja ja erityiseen tankoon kiinnitetty kestopagneetti. Magneettipartikkelit kerätään muovisuojan kärkeen ja menetelmä on erityisesti tarkoitettu pienten tilavuuksien käsittelyyn. Tangossa
- 35 on erityinen ulkoneva osa, jonka avulla magneetti ja tanko pysyy paikallaan suojaaputkessa.

Patentissa EP 1058851 (Korpela) ja hakemusjulkaisussa WO 01/60967 (Korpela) kuvataan laitteita, joissa on venyvä elastomeerinen suojakalvo. Näissä ratkaisulissa magneettipartikkelit kerätään venyvän suojakalvon pinnalle, josta ne edelleen voidaan siirtää toiseen astiaan. Magneetin suojakalvo on tehty venyvistä materiaalista, jolloin kalvo on venyneenä mahdollisimman ohut. Näin aikaansaadaan mahdollisimman pieni etäisyys magneetista nesteeseen.

Patenttijulkaisussa US 5,610,077 (Davis et al.) kuvataan erityisen sisäputken ja ulkoputken yhteiskäyttöä suoritettaessa spesifisiä immunomäärityksiä. Julkaisussa kuvataan erityisen sisäputkijärjestelyn avulla suoritettavia immunomäärityksiä koeputkessa tai mikrotiitterilevyn kuopassa pienellä nestetilavuudella. Kyseisellä putkijärjestelyllä voidaan koeputkessa tai mikrotiitterilevyn kuopassa olevan pienen nestetilavuuden nestepintaa nostaa ja näin saada aikaan putken reaktiivisen pinnan suureneminen ja liuoksentehokas sekoitus. Julkaisussa ei mainita mikropartikkelita eikä konsentrointia suuresta nestetilavuudesta pieneen nestetilavuuteen.

Missään edellä kuvatuissa patenteissa ei ole kuvattu menetelmää, jolla voitaisiin kerätä erittäin suurista nestetilavuuksista magneettipartikkelita ja vapauttaa kerätyt partikkelit pienempään nestetilavuuteen. Varsinkaan ei ole kuvattu realistista tapaa kerätä suurta magneettipartikkelimäärää suuresta nestetilavuudesta. Edellä mainituissa julkaisuissa kuvataan ennemminkin pienehköjen nestetilavuuksien, kuten 5-10 ml käsittelyä, ja erittäin pienten nestetilavuuksien käsittelyä. Jos halutaan sitoa proteiineja, peptidejä, nukleiinihappoja, soluja, bakteereja, viruksia tai muita komponentteja isosta tilavuudesta mikropartikkelien pinnalle on olemassa tiettyjä perusedellytyksiä käytettävälle optimaaliselle partikkelimäärälle. Riippuen käytettävistä mikro-partikkeleista, edullinen partikkelien määrä eristettävää nestemilliliittraa kohti voi olla esimerkiksi vähintään  $10^7$  kpl esimerkiksi 1-5  $\mu\text{m}$  halkaisijaltaan olevia mikropartikkeleita. Tarvittavien partikkelien määrä kasvaa edelleen, jos tietyistä yksikkötilavuudesta halutaan saada mahdollisimman luotettavasti sidotuksi haluttu, erittäin harvalukuinen komponentti. Toisaalta, jos on tarve kerätä mahdollisimman paljon komponentteja yksikkötilavuudesta, niin lähtökohtana on usein pidetty kerättävän komponentin tiettyä partikkeliylimäärää, joka on esimerkiksi 4:1. Näistä yleisistä riippuvuussuhteista voidaan karkeasti arvioida tarvittavia mikropartikkelimääriä esimerkiksi 50 ml:n tai 200 ml:n nestetilavuuksien käsittelyyn. Jos esimerkiksi 50 ml:n tilavuuteen pyritään saamaan edes lähelle edullisinta vastaava partikkelimäärä, niin mikropartikkeleita pitäisi annostella noin  $5 \times 10^8$  kpl. Tämä määrä vastaa isokokoista partikkelipellettiä, jonka käsittely edellä esitetyissä julkaisuissa kuvatuilla menetelmillä ei ole edullista tai ei ole edes mahdollista suorittaa. 50 ml:n

nestemäärä on vielä pieni verrattuna moniin sovelluksiin, joissa halutaan käsitellä jopa 10-1000 kertaisia nestemääriä. Sellaiset ratkaisut edellyttävät aivan uudenlaista menetelmää mikropartikkelien käsittelyyn.

- 5 Varsinkin julkaisuissa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) kuvatus keltaisella ratkaisulla, jossa magneettipartikkeleita on tarkoitus kerätä suurehkosta astiasta suuri määrä erittäin pienellä magneetilla hyvin terävän ja kapean sauvan pieneen kärkiosuuteen, on epäkäytännöllinen.
- 10 Suurta määrää magneettipartikkeleita ei voida siirtää pieneen tilavuuteen pienen pisteen ympärillä, koska magneettipartikkellimassan muodostaman pelletin fyysiset mitat kasvavat nopeasti käsiteltävän nestetilavuuden myötä. Suuri magneettipartikkelimassa pitää olla kerättynä joko isolla alueella tai erityiseen syvennykseen.
- 15 Tämän keksinnön tarkoituksena on aikaansaada menetelmä ja laite, jolla ei ole edellä esitettyjä epäkohtia. Keksintö liittyy nimenomaan magneettipartikkelien aktiiviseen keräykseen ja siirtelyyn nesteestä toiseen.

20 Keskelinen tekninen ominaisuus keksinnössä on se, että magneettikentän voimakkuutta ja kohdistusta suhteessa magneettia ympäröivään suojakalvoon voidaan säädellä. Tämä voidaan toteuttaa liikuttelemalla magneettia ferromagneettisessa putkessa siten, että se voi olla kokonaan putken sisällä, jolloin magneetin teho on mitätön tai olematon, tai se voi olla osittain tai kokonaan putken ulkopuolella, jolloin magneetin teho ja keräyspinta ovat suhteessa magneetin ulkonevaan osaan.

25 Putki voi olla tehty raudasta tai muusta sopivasta materiaalista, jonka magneettiset ominaisuudet ovat sopivia estämään magneettivuota pääsemästä putken läpi. Magneetin tehoa voidaan säädellä muuttamalla magneetin paikkaa ferromagneettisen putken suhteen siten, että osa magneetista on putken sisällä. Valhtoehtoisesti magneettia voidaan pitää paikallaan ja ferromagneettista putkea liikutetaan suhteessa magneettiin. Magneetti on 30 kiinnitetty tankoon, joka voi olla ferromagneettinen tai ei ole ferromagneettinen, ja jonka avulla magneettia voidaan liikuttaa ferromagneettisessa putkessa.

35 Keksinnössä mainittava ferromagneettisen putken ominaisuuksia ja etuja ovat ainakin seuraavat:

1. Putki suojaa magneettia ja sen pinnoltusta mekaaniselta rasitukselta

2. Putki vahvistaa magneettitangon rakennetta ja erityisesti putken ja liikkuvan tapin liittymiskohtaa
3. Putki mahdollistaa magneetin keräyspinnan ja keräysvolman säätämisen
4. Putki suojaa ulkopuolisia magneetikentille herkkiä laitteita erityisesti silloin kun  
5 magneetti on putken sisällä
5. Putkella voidaan venyttää ja/tai muotoilla venyvää suojakalvoa

10 Magneetti voi olla muodoltaan esimerkiksi pyöreä tanko tai tappi, mutta se voi olla myös muun muotoinen. Magneetin magnetointiakseli voi myös vaihdella. Magnetointiakseli voi olla joko pituussuuntainen, jolloin se on yhdensuuntainen tangon pituusakselin kanssa ja magneetin navat ovat tangon päissä. Tällöin magnetointi on saman suuntainen kuin ferromagneettinen putki eli magneetin tai putken liikesuunnan suuntainen.

15 Magneetin magnetointiakseli voi kuitenkin olla myös poikittaissuuntainen, jolloin se on kohtisuorassa sekä ferromagneettisen putken että tankomaisen magneetin pituusakselin suhteen. Tällöin magnetoinnin suunta on kohtisuorassa magneetin tai putken liikesuunnan suhteen.

20 Toisaalta magneetti voi koostua myös useasta eri magneetista, jotka voivat olla samanlaisia tai erilaisia, ja jotka voivat olla kiinnitettyinä toisiinsa magneettivoiman avulla tai jonkin materiaalin välityksellä, joka on ferromagneettista tai ei ole ferromagneettista. Magneetti voi olla myös yhdistelmä magneetista ja ferromagneettista materiaalia. Magneetti voi myös olla joko kestmagneetti tai sähkömagneetti.

25 Keksinnön mukaisella magneettijärjestelyllä, suojakalvolla ja käytettävillä astioilla voidaan käsitellä erittäin tehokkaasti mikropartikkeleita sekä suurissa että pienissä nestetilavuuksissa. Mikropartikkelien keskittäminen alvan magneettiyksikön kärkeen tuntumaan mahdollistaa sekä konsentroinnin suurista tilavuuksista että mikropartikkelien käsittelyn pienissä tilavuuksissa. Keksinnössä kuvataan universaalia ratkaisua  
30 mikropartikkelien kanssa tehtäviin sovelluksiin sekä suuressa että pienessä mittakaavassa.

Keksinnön avulla saavutetaan ratkaisu, joka on optimaalinen käytettäväksi laajasti mikropartikkelien keräämiseksi ja siirtämiseksi sekä suurista että pienistä nestetilavuuksista. Erityisesti keksintö auttaa partikkelien keräämistä suurista  
35 nestetilavuuksista ja niiden vapauttamista pienin nestetilavuuksiin.

Keksinnössä esitetään erityisellä muovisuojan tai elastomeerin ulkopuolen muotoilulla saavutettavan riittävää tukea kerättävän magneettipartikkelin massan edulliseksi ja luotettavaksi keräämiseksi suojan ympärille. Erityisellä muotoilulla tarkoitetaan esimerkiksi erikokoisia ja syvyisiä uria, kuoppia ja/tai kohoumia. Näiden muotoilujen lomien

- 5 keräytyessään magneettipartikkelipelletit saa erityistä tukea suojasta kun magneettiyksikköä siirrellään ja nestevirtauksia vastaan. Erittäin merkittävä on viskoosien näyttöiden aiheuttama vaikutus, joka merkitsee pahimmillaan sitä, että magneettipartikkelit eivät pysy suojan kyljessä kiinni vaan jäävät liuokseen. Suurten tilavuuksien käsittelyssä edellä mainitulla muotoilulla on luonnollisesti suuri etu keräysvarmuuteen.

10

Keksinnössä kuvattu laite ja menetelmä on mahdollista ottaa käyttöön erittäin suurten tilavuuksien käsittelyssä ja toisaalta sitä voidaan soveltaa myös pienissä tilavuuksissa. Erityisen tehokas menetelmä on silloin kun optimoidaan magneettiyksikkö, sen kanssa käytettävät astiat ja nestetilavuudet keskenään. Erityisesti magneettiyksikön syrjäyttämän

15 nestetilavuuden käyttäminen nestepinnan korkeuden säätämiseksi on menetelmässä erittäin tehokas tapa konsentroituvaiheessa. Ensimmäistä kertaa kuvataan laite ja menetelmä, jonka mikropartikkelien keräämisalaa, voimakkuutta ja mikropartikkelien fyysistä sijaintipaikkaa voidaan säätää kulloistenkin tarpeiden mukaan.

- 20 Keksinnössä kuvataan laite ja menetelmä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita monessa eri sovelluksessa. Keskeinen tekninen ratkaisu keksinnössä on magneettikentän voiman ja kohdistuksen säätelymahdollisuus ferromagneettisen putken avulla ympäröivään suojakalvoon, jonka ympärille mikropartikkelit kerätään. Magneettia voidaan liikuttaa ferromagneettisen putken suhteen ulos ja sisään, jolloin magneettin magneettikenttää
- 25 muutetaan. Magneetin ollessa ulkona kohdistuu suojakalvoon sen suuruinen magneettikenttä kuin ferromagneettisen putken ulkopuolella on magneettia. Tällöin mikropartikkeleita voidaan kerätä suojakalvon ulkopuolelle. Kun magneetti on liikutettu kokonaan ferromagneettisen putken sisään ei ulospäin vaikuta merkittävää magneettikenttää. Tässä tapauksessa mikropartikkelit eivät keräänny suojakalvon
- 30 ympärille vaan pysyvät liuoksessa. Putki voi olla kiinteä tai säädettävä jotta saadaan aikaan paras mahdollinen keräystehokkuus.

Keksinnön mukainen menetelmä ja laitemahdollistavat seuraavat ratkaisut ja ominaisuudet:

1. Mikropartikkelien kerääminen suuresta nestemäärästä.
- 35 2. Suuren mikropartikkelimäärän kerääminen.
3. Saman laitteen käyttäminen pienten nestemäärien ja pienien mikropartikkelimäärien keräämisessä.

4. Mikropartikkellen kerääminen ainoastaan magneetin yhteen päähän tai yli koko magneetin pinnan.
5. Mikropartikkellen kerääminen jäykkää muovisuojaa käytettäessä.
6. Mikropartikkellen kerääminen venyvää, elastomeerista muovisuojaa käytettäessä.
- 5 7. Erilaisten liikkeiden, kuten magneetin tai sen ympärillä olevan holkin liikkeiden hyödyntäminen.
8. Erilaisten astioiden käyttäminen konsentroinnissa.
9. Mikropartikkellen vapauttaminen pleneen nestemäärään.
- 10 10. Erilaisten magneettien käyttäminen optimaalisen mikropartikkellen keräysgeometrian alkaansaamiseksi.

Mikropartikkeleissa voi olla affiniteettiligandeja, entsyymejä, vasta-aineita, bakteereja, soluja tai soluorganelleja. Haluttujen komponenttien sitoutuminen voidaan myös saada aikaan valitsemalla käytettävien mikropartikkelien pinta-ominaisuudet ja puskurien kompositio sopivasti edulliseksi sitomaan haluttuja komponentteja näytteistä. Esimerkkeinä ovat ioninvaihto-, hydrofobinen- ja kääntelsfaasikromatografia. Näissä esimerkiksi proteiinien sitoutuminen ja vapauttaminen mikropartikkelien pinnalta suoritetaan sopivasti valittujen puskurien ja liuosten avulla. Erittäin tärkeitä tekijöitä ovat tällöin esimerkiksi suolapitoisuus ja pH.

20 Affiniteettiligandi voi olla esimerkiksi yksi- tai kaksisäikeinen nukleotidisekvenssi, kuten esimerkiksi DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA, mRNA tai cDNA (Complementary DNA), tai PNA (Peptide Nucleic Acid), proteiini, peptidi, polysakkaridi, oligosakkaridi, pienimolekyylinen yhdiste tai lektiini. Affiniteettiligandi voi olla myös jokin seuraavista:

25 Ovomucoid, Protein A, Aminophenyl boronic acid, Procion red, Phosphoryl ethanolamine, Protein G, Phenyl alanine, Proteamine, Pepstatin, Dextran sulfate, EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid), PEG (Polyethylene Glycol), N-acetyl-glucosamine, Gelatin, Glutathione, Heparin, Iminodiacetic acid, NTA (Nitrilotriacetic Acid), Lentil lectin, Lysine, NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide), Aminobenzamidine, Acriflavine, AMP,

30 Aprotinin, Avidin, Streptavidin, Bovine serum albumin (BSA), Biotin, Concanavalin A (ConA) ja Cibacron Blue.

Entsyymiin tai affiniteettiligandin immobilisointi mikropartikkeleihin tarkoittaa sitä, että entsyymi tai ligandi on kiinnitetty partikkeleiden pintaan tai että se on vangittu

35 "häkkinäisen" partikkelin sisään, kuitenkin niin, että ympäröivä liuos pääsee kosketukseen sen kanssa.

Entsyymien tai affiniteettiligandien kiinnittäminen mikropartikkeleihin voidaan tehdä kovalenttisen sidoksen avulla, esimerkiksi kantajassa olevien amino- tai hydroksiryhmien avulla. Vaihtoehtoisesti sitominen voidaan aikaansaada bioaffiniteettiparin, esimerkiksi biotiini/streptavidiini -parin avulla. Erään tavan mukaan immobilisoitava entsyymi tuotetaan rekombinantti-DNA-tekniikalla esimerkiksi *Escherichia coli* bakteerissa ja entsyymiin on tehty erityinen affiniteettihäntä. Tämä affiniteettihäntä sitoutuu mikropartikkeleihin, joihin on sopivasti kiinnitetty kyselyyn affiniteettihäntään voimakkaasti sitoutuva komponentti. Affiniteettihäntä voi olla pienimolekyylinen yhdiste tai proteiini. Tällaisella järjestelyllä halutun entsyymien puhdistamisessa voitaisiin tehokkaasti käyttää hyväksi mikropartikkeleita ja samalla mikropartikkeliin sitoutunut entsyymi olisi valmiiksi immobilisoitu mikropartikkelin pinnalle käytettäväksi keksinnössä kuvatussa menetelmässä.

Entsyymien tai affiniteettiligandien kiinnittäminen mikropartikkeleihin voi myös olla epäspesifinen, ei-kovalenttinen, kuten adsorptio.

Keksinnön kohteena on laite ja menetelmä mikropartikkeleiden kerääminen hyvinkin erikokoisista astioista ja mikropartikkelien siirtäminen astiasta toiseen. Erityisesti keksinnössä kuvataan laitetta, jolla voidaan suuresta tilavuudesta kerätä mikropartikkelit ja konsentroida ne pienempään tilavuuteen. Käsite "mikropartikkeli" tarkoittaa tässä yhteydessä partikkeleita, joiden koko suositeltavasti on 0,10-100 µm. Mikropartikkeli voi olla myös huomattavasti suurempikin partikkeli esimerkiksi useita millimetriä halkaisijaltaan oleva partikkeli. Keksinnössä mikropartikkelit ovat magneettisia, kuten esimerkiksi para-, superpara- tai ferromagneettisia, tai magnetoitavissa olevaa materiaalia, tai mikropartikkelit on liitetty magneettiseen tai magnetoitavissa olevaan kappaleeseen ja että mikropartikkelit, joihin voi olla liitettynä esimerkiksi affiniteettiryhmiä tai entsyymeitä, vangitaan ensimmäiseen astiaan upotetun magneettisyksikön avulla, siirretään magneettisyksikkö toiseen astiaan, ja vapautetaan mikropartikkelit magneetin vaikutuksesta sopivin eri tavoin kuten keksinnössä kuvataan. Vaihtoehtoisesti mikropartikkeleja ei tarvitse erityisesti irrottaa magneettisyksiköstä.

Magneetti, jonka avulla partikkelit vangitaan, voi olla joko kestmagneetti tai sähkömagneetti. Magneettien muoto voi sovelluksesta riippuen vaihdella. Magneettikenttä voi olla magneeteissa erilainen: pituussuunnassa magnetoitu magneetti, samansuuntaisesti kuin magneetin halkaisija magnetoitu tai useita magneettinapoja samassa magneetikappaleessa. Yksittäisiä magneetteja voi olla myös liitettynä toisiinsa tai sopivien ferromagneettisten tai ei-ferromagneettisten välkkappaleiden avulla.

Suojakalvo voi olla venymätöntä materiaalia kuten esimerkiksi polypropyleeniä, polystyreeniä, polykarbonaattia, polysulfonia ja polyetyleneiä. Suojakalvo voi olla myös ei-ferromagneettista metallia tai ferromagneettista metallia. Suojakalvo voi olla myös venyvää elastomerista materiaalia kuten esimerkiksi silikonikumia, fluoroelastomeeriä, polykloropreenia, polyuretaania tai klorosulfonoitua polyetyleneiä. Suojakalvo voi myös olla käsitelty erityisillä aineilla ja näin saada suojakalvon ominaisuuksia muutettua. Suojakalvo voi näin olla pinnoitettu esimerkiksi teflonilla (PTFE, Polytetrafluoroethylene). Erityisen tärkeää on voida valita suojamateriaali ja mahdollinen lisäkäsittely siten, että lopputulos mahdollistaa keksinnön mukaisen toiminnan jopa erittäin voimakkaiden tai syövyttävien kemikaalien kanssa. Suojakalvo voi myös olla muotoiltu siten, että se mahdollistaa useiden erillisten magneettiyksiköiden suojauksen, esimerkiksi 8, 12 tai 96 kanavallisissa laitteissa. Suojakalvon muoto voi olla joko putkimainen, levymainen tai epäsäännöllisesti muotoiltu. Erityisen monia mahdollisuuksia on elastomeerista suojakalvoa käytettäessä, koska tällöin sisällä oleva magneetti ja ferromagneettinen putki voivat myös muotoilla suojakalvoa.

Keksinnössä kuvattava astia tai reaktori voi olla eri materiaaleista valmistettu ja vaihtelevan muotoinen. Astiassa voi olla yksi tai useampi aukko nestöiden sisään- ja ulosvientiä varten. Astiassa voi olla järjestely, jolla käsiteltävää nestettä kierrätetään uudestaan käsiteltäväksi astian sisään. Astia voi olla osa suurempaa kokonaisuutta, jossa on useita erilaisia ja erikokoisia astioita liitettyinä sopivasti toisiinsa.

Keksinnössä kuvattu ferromagneettinen putki voi olla yksittäinen putki, joukko useampia putkia yhdessä tai järjestely, jossa yksittäiset putket muodostavat erityisen muodostelman putkista. Eräässä keksinnön suoritusmuodossa ferromagneettinen putki voi olla erityinen ferromagneettinen levy, jossa on yksi tai useampi reikä, jossa yksi tai useampi magneetti voi liikkua. Tällainen järjestely on erityisen edullinen käsiteltäessä pieniä tilavuuksia esimerkiksi 8, 24, 48, 96 ja 384 kuoppalevy-formaateissa, kuten mikrotiiterilevyissä tai vastaavissa.

Varsinkin erittäin suurilla tilavuuksilla käsiteltäessä voi olla edullista sisällyttää useita magneettiyksiköitä magneettiyksikköryhmäksi, jolloin keräyspintaa suurille mikropartikkelimassoille voidaan entisestään kasvattaa. Lisäksi suojakalvon muotoilulla voidaan saavuttaa edullisia vaihtoehtoja suurten partikkelimassojen käsittelyyn.

Keksinnössä kuvatulla laitteella voidaan kerätä mikropartikkeleita useista eri astioista tai voidaan tehdä järjestely, jossa neste kulkee tasaisena virtana sauvojen ohi.

Jälkimmäisessä tapauksessa on se etu, että siinä suurtenkin tilavuuksien operoiminen on suhteellisen vaivatonta. Näissä kummassakin tapauksessa on lähtöoletuksena ollut se, että partikkelit ovat ensin vapaasti liuoksessa, josta ne sitten kerätään keksinnössä kuvatulla menetelmällä.

6

Keksinnön mukaisesti yhden suojakalvon sisällä voi myös olla useita magneettisauvoja suojakalvon sisäkehällä sopivasti järjestettynä. Erityisesti tämä koskee erittäin suurikokoisen suojakalvon tapausta, jolloin käsitellään erittäin suuria nestetilavuuksia. Toinen vaihtoehto on käyttää yhtä erittäin isoa magneettisauvaa suurikokoisen suojakalvon sisällä.

10

Keksinnön mukaisesti voi olla myös ratkaisu, jossa erikseen on magneettisauvat keräämään mikropartikkeleita ja erityinen laite tai sauva liikuttelemaan nestepintaa sopivasti keksinnössä kuvatulla tavalla. Tämä ratkaisu mahdollistaa ratkaisuja, joissa magneettisauvat eivät liiku lainkaan vaan nesteen ja mikropartikkelien liikutus hoidetaan sille erityisesti suunnitellun elimen avulla. Tällaisessa ratkaisussa käytettävä astia tai reaktori on sopivasti suunniteltu vastaamaan kuvattuja tarpeita.

15

20

Eräässä keksinnön mukaisessa sovellutusmuodossa on monta erillistä magneettisauvaa, joihin jokaiseen kuuluu oma suojakalvonsa. Nämä magneettisauvat voivat olla ryhmitelty sopivaan muodostelmaan, kuten esimerkiksi viuhkaksi riviin, ympyrän kaarelle tai usealle sisäkkäiselle ympyrän kaarelle, jossa jokainen sauva kerää ympärilleen sopivan määrän mikropartikkeleita. Jos tällainen ratkaisu on vielä sijoitettuna suljettuun astiaan tai reaktoriin, jonne voidaan lisätä tarpeen mukaan nestettä, ja jossa voi olla erillinen venttiili, josta käsitelty neste voidaan päästä pois, niin näin aikaan saadulla ratkaisulla voidaan käsitellä erittäin suuria nestetilavuuksia. Jos näin kuvattua reaktorityyppiä pidetään kyljellään ja magneettisauvasysteemiä voidaan pyörittää suhteessa reaktorin suojakuoriin, niin tällaisella ratkaisulla voidaan saada myös sekoitus käsiteltäessä nestemäisiä näytteitä ja mikropartikkeleita. Mikropartikkelit voivat olla myös valmiiksi magneettisauvoissa kiinni tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää magneettisauvojen suojan päälle ja näin aktiivista pintaa on reaktorissa erittäin paljon. Sekoittamalla saadaan käsiteltävä neste kulkemaan mikropartikkelien lomitse siten, että halutut komponentit kuten esimerkiksi proteiinit tarttuvat sauvojen päällä oleviin mikropartikkeleihin. Tolsaalta neste voidaan saattaa mikropartikkelien lomitse järjestämällä nestevirtaukset sopivasti astiaan tai reaktoriinsisällä.

25

30

35

Keksinnön mukaisen laite ja menetelmä ei rajoitu vain esimerkiksi molekyylibiologiaan tai proteiinien puhdistukseen, vaan se on yleisesti sovellettavissa aloilla, joilla voidaan käyttää mikropartikkeleihin sidottuja ligandeja syntetisoimaan, sitomaan, eristämään, puhdistamaan tai rikastamaan haluttuja tekijöitä erilaisista näytteistä: diagnostiset sovellukset, biolääketiede, patogeenien rikastaminen, kemikaalien syntetisoiminen, bakteerien ja solujen eristäminen.

### KEKSINNÖN KÄYTTÖSOVELLUKSET

Keksinnön mukainen laite ja menetelmä soveltuu käytettäväksi erittäin monilla sovellusalueilla esimerkiksi proteiinikemian, molekyylibiologian, solubiologian ja proteomiikan alueilla. Keksinnöllä on sovelluksia teollisuudessa, diagnostiikassa, analyytiikassa ja tutkimuksessa.

Proteiinien puhdistuksessa on tarvetta tehdä puhdistuskokeita pienissä tilavuuksissa ja toisaalta kasvattaa kapasiteettia hyvinkin suuriin tilavuuksiin. Kuvatulla keksinnöllä voidaan suorittaa proteiinipuhdistuksia tarpeen mukaan erilaisista näytetilavuuksista. Proteiinikemisteillä on tarve pystyä puhdistamaan proteiinia mahdollisimman vähän esikäsitellyistä näytteistä, kuten esimerkiksi solulyysaateista (engl. Cell Lysate). Tärkeää on myös voida vaihdella puhdistuskapasiteettia muuttuvien tarpoiden mukaan. Nykyään se on mahdollista vaihtamalla käytettäviä pylväskokoja. Puhdistuksen edetessä proteiinin konsentroiminen on yksi keskeisistä toimenpiteistä. Käytännössä tämä tarkoittaa nestetilavuuden pienentämistä ilman proteiinien merkittävää häviämistä tai denaturoitumista. Nykyisin yleisimmin käytetyt menetelmät ovat dialyysi tai suodatus. Molemmat ovat erittäin paljon aikaa vieviä menetelmiä. Tässä keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä voidaan tarjota proteiinialueelle monipuolinen ja vaihteleviin näytetilavuuksiin soveltuva menetelmä. Kapasiteetin muuttaminen on helppoa ilman uusien kolonnien ostamista tai valmistamista. Yksinkertaisesti valitaan suurempaan näytetilavuuteen suurempi määrä mikropartikkeleita ja proteiinien sitomisen jälkeen kerätään keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä mikropartikkelit ja proteiini pois liuoksesta. Pesuvaiheet voidaan suorittaa joko samassa astiassa tai vaihtamalla astiaa. Edellisessä tapauksessa käytetyt pesupuskurit pitää johtaa pois astiasta ja saada uusi pesupuskuri tilalle. Puskurin vaihto voidaan suorittaa myös erilaisilla venttiilijärjestelyillä tai imu-järjestelyillä. Pesujen jälkeen voidaan haluttaessa vapauttaa mikropartikkeleihin sitoutuneet proteiinit pieneen tilavuuteen ja konsentroida proteiiniliuos tehokkaasti. Tarpeen mukaan voidaan tilavuuden pienentäminen tehdä vaiheittain pienempää tilavuutta kohti.

- Keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä voidaan tehdä esimerkiksi ioninvaihto kromatografiaa, kääntelsfaasi kromatografiaa, hydrofobista kromatografiaa ja affiniteettikromatografisia puhdistuksia. Geelisuodatuksenkin kuvatulla laitteella pystytään, mutta se edellyttää varsinaisen geelisuodatuksen suorittamista esimerkiksi kolonnissa ja
- 5 tämän jälkeen mikropartikkellen keräämisen keksinnön mukaisella laitteella ja proteiinien ulosajamisen pieneen tilavuuteen. Menetelmä mahdollistaa esimerkiksi suolanpoistamisen näytteistä ilman suurta näytteen laimenemista verrattuna perinteiseen geelisuodatuskolonneihin.
- 10 Immobiliisoitujen entsyymien käyttäminen erilaisten proteiinien, sokerien, rasvojen ja erilaisten nk. biopolymeerien prosessoinnissa on erittäin tärkeä sovellusalue kuvatulle keksinnölle. Tärkeä ominaisuus verrattuna liukoisten entsyymien käyttämiselle on immobiliisoitujen entsyymien helppo uudelleenkäyttämähollisuus. Kuvatulla keksinnöllä immobilioidun entsyymin peseminen jatkokäyttöä varten on erittäin helppoa ja tehokasta.
- 15 Esimerkkejä keskeisistä, muun muassa teollisuudessa käytetyistä entsyymiryhmistä ja yksittäisistä entsyymeistä ovat:
- KARBOHYDRAASIT: Alpha-Amylases, Beta-Amylase, Cellulase, Dextranase, Alpha-Glucosidase, Alpha-Galactosidase, Glucoamylase, Hemicellulase, Pentosanase, Xylanase, Invertase, Lactase, Pectinase, Pullulanase
  - PROTEAASIT: Acid Protease, Alkaline Protease, Bromelain, Ficin, Neutral Proteases, Papain, Pepsin, Peptidases, Rennin, Chymosin, Subtilisin, Thermolysin, Trypsin
  - LIPAASIT AND ESTERAASIT: Triglyceridases, Phospholipases, Esterases,
  - 25 Acetylcholinesterase, Phosphatases, Phytase, Amidases, Aminoacylase, Glutaminase, Lysozyme, Penicillin Acylase
  - ISOMERAASIT: Glucose Isomerase, epimerases, racemases
  - OKSIDOREDUKTAASIT: Amino Acid Oxidase, Catalase, Chloroperoxidase, Glucose Oxidase, Hydroxysteroid Dehydrogenase, Alcohol dehydrogenase, Aldehyde
  - 30 dehydrogenase, Peroxidases
  - LYAASIT: Acetolactate Decarboxylase, Aspartic Beta-Decarboxylase, Fumarase, Histidase, DOPA decarboxylase
  - TRANSFERAASIT: Cyclodextrin Glycosyltransferase, Methyltransferase, Transaminase, Kinases
  - 35 - LIGAASIT
  - FOSFATAASIT: Alkaline Phosphatase

Entsyymien käyttäminen on erittäin yleistä monilla eri teollisuuden haaroilla, joista seuraavassa muutamia esimerkkejä: lipidien, proteiinien, peptidien, steroidien, sokerien, aminohappojen, lääkeaineiden, muovien, hajusteiden, kemikaalien ja nk. chiral kemikaalien synteesit ja modifiointi.

5.

Myös erilaiset glykobiologiaan liittyvät syntetisoivat ja pilkkovat entsyymit kuten esimerkiksi endo- ja exoglykosidaasit kuuluvat keksinnön piiriin. Samaten molekyylibiologian sovelluksista tutut entsyymit kuten restriktioentsyymit, nukleaaasit, ribozymes, polymeraasit, ligaasit, kääntelstranskriptaasit, kinaasit ja fosfataasit kuuluvat keksinnössä kuvatus menetelmän piiriin. Esimerkkeinä DNA/RNA modifioivista entsyymeistä voidaan mainita: CIAP (Calf Intestinal Alkaline Phosphatase), E. Coli alkaline phosphatase, eksonukleaaasit (esimerkiksi P1 nukleaaasi, S1 nukleaaasi), ribonukleaaasit, RNAasit (esim. Pancreatic RNAasi, RNAasi H, RNAasi T1, RNAasi M, RNAasi T2), DNA ligaasit, RNA ligaasit, DNA polymeraasit, Klenow entsyymi, RNA polymeraasit, DNA kinaasit, RNA kinaasit, terminal transferaasit, AMV reverse transcriptase ja fosfodiesterasaasit. Näiden ja muiden DNA/RNA modifioivien entsyymien käyttö on erittäin monimuotoista sekä molekyylibiologian tutkimuksessa että sovelluksissa. Proteomiikassa ja proteini-kemialla proteaasit ovat erittäin tärkeitä entsyymejä, joista eräitä esimerkkejä ovat trypsiini, kymotrypsiini, papaiini, pepsini, kollageenaasi, dipeptidyl-peptidaasi IV ja erilaiset endoproteinaasit. Synteettiset entsyymit, katalyyttiset vasta-aineet ja multientsyymikompleksit ovat mahdollisia käytettäväksi keksinnössä kuvatulla tavalla. Keksinnön käyttöä ei myöskään rajoita entsyymien ja muiden katalyyttisten komponenttien käyttö vedettömissä olosuhteissa esimerkiksi orgaanisessa liuotimissa.

25 Konkreettisina esimerkkeinä keksinnön sovelluksista molekyylibiologian alalla voidaan mainita:

#### DNA INSERTTIEN KLOONAUS:

DNA inserttien kloonauksessa tarvitaan restriktioentsyymejä, (Esim. EcoR I, Hind III, Bam HI, Pst I, Sal I, Bgl II, Kpn I, Xba I, Sac I, Xho I, Hae III, Pvu II, Not I, Sst I, Bgl I), creating blunt ends (esim. lämpöstabiliit polymeraasit, Klenow Fragment DNA Polymerase I, Mung Bean nukleaaasi), ligaatiot (esim. T4 DNA Ligase, E. coli DNA Ligase, T4 RNA Ligase), fosforylointi (esim. T4 Polynucleotide Kinase), defosforylaatio (esim. CIAP, E. coli Alkaline Phosphatase, T4 Polynucleotide Kinase) ja deleetit (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiliit polymeraasit, Exo III Nuclease, Mung Bean Nuclease)

#### cDNA:n SYNTETISOINTI JA KLOONAUS:

Reverse Transcriptase, RNase H, DNA polymerase I, T4 DNA polymerase I, E. coli DNA Ligase.

#### NUKLEIINIHAAPPOJEN LEIMAUS:

- 5 5' leimaus (esim. T4 Polynucleotide Kinase), 3' addition (esim. T4 RNA Ligase), 3' fill-in (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, T4 DNA Polymerase), 3' exchange (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit), nick-translation (esim. E. coli DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit), replacement synteesi (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit, Exo III Nuclease), random priming (esim. Klenow  
10 Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit) ja RNA koettimet (esim. T7 RNA Polymerase, SP6 RNA Polymerase).

#### NUKLEIINIHAAPPOJEN SEKVENTOINTI:

- DNA:n sekventointi (esim. E. coli DNA Polymerase I, Klenow Fragment DNA Polymerase I,  
15 lämpöstabiilit polymeraasit) ja RNA:n sekventointi (esim. Reverse Transcriptase, lämpöstabiilit kääntelstanskriptaasit).

#### NUKLEIINIHAAPPOJEN MUTAGENOINTI:

- Oligonucleotide directed (esim. T4 DNA Polymerase, T7 DNA Polymerase, lämpöstabiilit  
20 polymeraasit) ja Misincorporation (esim. Exo III Nuclease, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit).

#### MAPPING:

- Restriction (esim. Exo III Nuclease), Footprinting (esim. Exo III Nuclease)  
25 ja Transcript (esim. Reverse Transcriptase, Mung Bean Nuclease).

#### NUKLEIINIHAAPPOJEN PUHDISTAMINEN:

- Genomisen DNA:n, PCR fragmenttien, DNA/RNA koettimien ja plasmidi DNA:n  
eristäminen ja puhdistaminen.  
30

#### DNA DIAGNOSTIC TECHNIQUES:

- DNA Mapping, DNA:n sekvenointi, SNP-analyysit (Single Nucleotide Polymorphism),  
kromosomiaalyysit, DNA kirjastot, PCR (Polymerase Chain Reaction), Inverse PCR,  
LCR (Ligase Chain Reaction), NASBA (Nucleic Acid Strand-Based Amplification), Q beta  
35 replicase, Ribonuclease Protection Assay.

#### DNA DIAGNOSTIIKKAA:

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Polymorphism), bakteeri-infektioiden diagnostiikka, bakteerien antibioottiresistenttiys DNA fingerprints, SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) ja DNA:n sekvenointi.

- 5 Solujen eristämisessä kuvattua menetelmää voidaan käyttää myös laajasti hyväksi. Kiinnostavia soluja ovat muuten muassa kantasolut, B-lymfosyytit, T-lymfosyytit, endoteeliset solut, granylosyytit, Langerhansinsolut, leukosyytit, monosyytit, makrofagit, myeloid cells, NK solut (engl. Natural Killer Cells), retikulosyytit, trophoblasts, syöpäsolut, transfektoidut solut ja hybridoomasolut. Solujen eristämisessä voidaan käyttää yleisesti
- 10 tunnettuja menetelmiä kuten esimerkiksi suoraa tai käänteistä solujen eristämistapaa. Ensin mainitussa, suorassa eristämistavassa, halutut solut kerätään erilleen näytteestä sitomalla ne mikropartikkelin pintaan esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita hyväksikäyttämällä. Epäsuorassa menetelmässä haluttuja soluja ei sidota mikropartikkeleihin kiinni vaan kaikki muut näytteessä olevat solut. Halutut solut jäävät tässä
- 15 tapauksessa liuokseen.

- Bakteerien, virusten, hiivojen ja monien muiden yksi tai monisoluisien eläiden eristämiseen, puhdistamiseen ja/tai rikastamiseen keksinnössä kuvattu menetelmä soveltuu hyvin. Erityisen tärkeä sovellusalue on patogeenisten bakteerien, virusten,
- 20 parasitiitten, alkueläinten tai muiden pieneläiden rikastaminen isosta neste-tilavuudesta. Keksinnössä kuvattua laitetta ja menetelmää voidaan hyödyntää myös näillä sovellusalueilla.

- Biokatalyyysillä ymmärretään yleisesti bakteerien, entsyymien tai muiden entsyymejä sisältävien komponenttien käyttämistä prosessissa. Entsyymit tai bakteerit voivat olla
- 25 immobilisoituja sopivaan kiintokantajaan ja käsiteltävä aine saatetaan immobilisoitujen komponenttien kanssa yhteyteen esimerkiksi perinteisiä kolonneja käyttämällä. Tämän keksinnön mukaisesti soluja tai entsyymejä voidaan kiinnittää sopivasti mikropartikkeleihin, joita sitten käytetään keksinnön mukaisesti suorittamaan erilaisia entsyymaattisia reaktioita.

- 30 Soluorganellien ja erilaisten solufraktioiden eristäminen kuuluu myös keksinnön sovellusalueiden piiriin. Soluorganelit voidaan eristää normaaliin tapaan käyttämällä hyväksi esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita tai erilaisia affinitettiligandeja.

- 35 Nukleoliinihappojen puhdistuksessa on hyvin erilaisia tarpeita lähtien aivan pienten DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA (Ribonucleic Acid) tai mRNA (Messenger RNA) määrien puhdistuksesta suuriin monien litrojen käsittelytarpeisiin. Tämän keksinnön mukaisella

menetelmällä voidaan sekä suurista että pienistä näytemääristä eristää nukleinihappo tehokkaasti.

- Menetelmän avulla voidaan ketjuttaa eristys- ja puhdistustapahtumia erilaisien tarpeiden mukaan. Voidaan esimerkiksi ensin eristää halutut solut näytteestä ja puhdistaa ne. Tämän jälkeen soluista voidaan eristää esimerkiksi soluorganelit erilleen. Soluorganelit puhdistetaan ja prosessissa voi jatkua esimerkiksi DNA:n tai proteiinin puhdistamiseen. Prosessin aikana voidaan vaihdella erilaisilla pääilystyksillä ja ominaisuuksilla varustettuja mikropartikkeleita tarpeiden mukaan. Viimeinen vaihe on puhdistetun tuotteen konsentroiminen haluttuun tilavuuteen.

#### LYHYT SELOSTUS PIIRUSTUKSISTA

- Kuviot 1A-1G esittävät kaaviollisesti keksinnön mukaisen mikropartikkelien siirtolaitteen magneettiyksikön eri sovellutusmuotoja leikattuna.
- 15 Kuviot 2A-2G esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön magneettien eri sovellutusmuotoja ja niiden magneettikenttiä.
- Kuviot 3A ja 3B esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön sovellutusmuotoja sijoitettuna mikropartikkeleita sisältävään liuokseen.
- Kuviot 4A-4B vastaavat kuvioita 3A ja 3B ja esittävät magneettiyksikön toisia sovellutusmuotoja liuoksessa.
- 20 Kuviot 5A-5E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 6A-6E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- 25 Kuviot 7A-7E esittävät venyvällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 8A-8E esittävät venyvällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 9A-9G esittävät magneettiyksikön käytön vaiheita siirrettäessä mikropartikkeleita astiasta toiseen.
- 30 Kuvio 10 esittää käsin käytettävää mikropartikkelien siirtolaitetta sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- Kuvio 11 esittää käsin käytettävää mikropartikkelien monikanavasiiirtolaitetta sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- 35 Kuvio 12 esittää kaaviollisesti siirtolaitteautomaattia.

#### PIIRUSTUSTEN YKSITYISKOHTAINEN SELOSTUS

Kuviossa 1A on esitetty keksinnön mukaisen magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto, johon kuuluu ferromagneettinen putki 12, jonka sisällä on tankomainen kestmagneetti 13, jota liikutetaan tangon tai siirtotapin 11 välityksellä. Magneetin 13 ja tangon 11 välistä liittymäkohtaa on merkitty viitenumerolla 14 ja putken 12 päässä olevaa aukkoa viitenumerolla 15. Liikuttamalla tankoa 11 ja sen sisällä olevaa putkea 12 aksiaalisesti toistensa suhteen, tankomaisen magneetin 12 pää työntyy ulos putken 12 pään aukosta 15. Toisin sanoen tankoa 11 ja siihen liitettyä magneettia 13 voidaan liikuttaa putken 12 sisällä, tai putkea 12 voidaan liikuttaa, jolloin tanko 11 ja magneetti 13 pysyvät paikoillaan. Vaihtoehtoisesti myös molemmat osat 12 ja 13 voivat liikkua. Kaikilla näillä vaihtoehtoisilla tavoin saadaan magneetti 13 työnnettyksi ulos putken 12 päässä olevasta aukosta 15 ja jälleen takaisin putken 12 sisään.

Kuviossa 1A tangon 11 halkaisija on suurempi kuin magneetin 13 halkaisija. Magneetti 13 on liitetty tankoon 11 siten, että magneetin 13 pää on työnnetty tangon 11 päässä olevaan koloon. Kolon ja magneetin 13 välillä on riittävän tiukka sovitte, joka pitää magneetin 13 ja tangon liitettynä toisiinsa. Koska ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija on tässä ratkaisussa suurempi kuin magneetin 13 halkaisija, niin joissakin tapauksissa se saattaa olla haitallista.

Kuviossa 1B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuria. Magneetin 13 ja tangon 11 välisenä liitoselimenä on ohutseinäinen holkki 16, jonka sisään sekä tangon 11 että magneetin 13 päät on työnnetty. Ohutseinäisen holkin 16 sisähalkaisija on muodostettu sellaiseksi, että holkin 16 ja magneetin 13 välinen sovitte sekä holkin 16 ja tangon 11 välinen sovitte ovat riittävän tiukat pitämään nämä osat liitettynä toisiinsa. Koska holkki 16 on ohutseinäinen, niin magneetin 13 halkaisija voi olla lähes yhtä suuri kuin ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija.

Kuviossa 1C on esitetty magneettiyksikön 10 kolmas sovellutusmuoto, jossa ferromagneettisen putken 12 pään suuaukko 15 on supistettu. Näin saadaan magneetin 13 ja putken 12 välitys sopivaksi, vaikka putken 16 sisähalkaisija olisikin selvästi suurempi kuin magneetin 13 halkaisija.

Kuviossa 1D on esitetty magneettiyksikön 10 neljäs sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 välinen liitos 14 on toteutettu liimalla. Tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret, jolloin niiden ja putken 11 sisäpinnan välillä voidaan tehdä sopivan pieneksi.

Kuviossa 1E on esitetty magneettiyksikön 10 viides sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 liittäminen toisiinsa magneetin 13 oman magneettivoiman avulla siten, että magneetti 13 vetää tangon 11 riittävän tiukasti kiinni magneettiin 13. Ratkaisu toimii alnoastaan, jos tanko 11 on ferromagneettista materiaalia. Myös tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret.

Kuviossa 1F on esitetty magneettiyksikön 10 kuudes sovellutusmuoto, jossa tangon 11 päähän muodostettu uloke, joka on työnnetty magneetin 13 päähän muodostettuun koloon. Liitoskohdassa 14 ulokkeen ja kolon välinen sovite on tehty riittävän tiukaksi pitämään nämä osat liitettyinä toisiinsa.

Kuvio 1G on esitetty magneettiyksikön 10 seitsemäs sovellutusmuoto, jossa on kestopagneetin asemesta sähkömagneetti. Tässä ratkaisussa tanko 11 on ferromagneettista materiaalia ja sen toisen pään ympärille on sijoitettu käämi 27, joka indusoi magneettikentän tankoon 11 silloin, kuin jännitelähde on kytketty käämiin 27. Näin ollen tanko 11 toimii sähkömagneettina, jolloin erillistä, siihen liitettävää kestopagneettia ei tarvita.

Kuviossa 2A on esitetty magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 kiinnitystapa vastaa kuvion 1B ratkaisua eli magneetti 13 on liitetty tankoon 11 holkin avulla. Kuviossa 1B ei ollut kuitenkaan mainittu mitään magneetin magnetointisuunnasta. Kuvion 2A magneettiyksikössä 10 magneetin 13 magnetointisuunta on magneetin 13 pituusakselin suuntainen.

Kuviossa 2B esitetty magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto vastaa kuvion 2A ratkaisua muissa suhteissa, mutta magneetin 13 magnetointisuunta on poikittainen eli kohtisuoraan magneetin 13 pituusaksella vastaan. Sekä kuviossa 2A että kuviossa 2B magneetti 13 voidaan kuitenkin liittää tankoon 11 myös millä muulla tavalla tahansa.

Kuvioissa 2C-2G on esitetty kaaviollisesti magneettiyksikön 10 magneetin 13 aikaansaama magneettikenttä eri sovellutusmuodoissa.

Kuviossa 2C on esitetty magneettiyksikön 10 magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti, kuten kuviossa 2A. Kuvion 2C esittämässä tilanteessa magneetin 13 toinen pää on osittain työnnetty putkesta 12 ulos, jolloin sen magneettikenttä 17 ulottuu magneetin 13 kauimmaisesta päästä putken 12 päähän. Suurin magneettivuotiheys tällä

ratkaisulla saadaan magneetin 13 vapaan pään ympärillä, jota aluetta on kuviossa 2C merkitty viitenummerolla 18. Kuvatulla ratkaisulla saadaan magneettipartikkelit kerääntymään pääosin vain magneetin 13 tähän päähän, jolloin kerättävän partikkelimassan määrä on rajoitettu.

5

Kuviossa 2D on esitetty magneettiyksikön 10 magneetin 13 magneettikenttä silloin, kuin magneetin 13 magnetointiakseli on poikkisuuntainen eli kuvion 2B mukainen. Tässä tapauksessa aikaansaatu magneettikenttä 19 on tasaisesti jakautuneena koko magneetin 13 yli, jolloin magneettipartikkelien keräyspinta on suurin mahdollinen.

10

Mikäli kuitenkin halutaan rajata magneettiyksikön 10 magneetin 13 keräyspintaa, niin magneetti 13 voidaan jättää osittain ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällainen tilanne on esitetty kuviossa 2E. Tällöin magneetin 13 keräyspinta 20 on hieman pienempi kuin kuvion 2D esittämässä tilanteessa.

15

Kuvioissa 2F ja 2G on esitetty kaaviollisesti poikkileikkaukset kahdesta eri tavalla poikittain magnetoidusta magneettiyksikön 10 magneetista 13. Kuviossa 2F magneetti 13 on jaettu pituusakselin suuntaisella tasolla kahteen osaan. Kuviossa 2G magneetti 13 on jaettu vastaavasti neljään pituussuuntaiseen osaan. Kuvioista 2F ja 2G nähdään, että magneettikentät ovat niissä erilaisia, koska magneettikentät sijoittuvat hieman eri tavoin. Kuitenkin molemmat ratkaisut ja kaikki niiden variaatiot ovat yhtä käyttökelpoisia.

20

Kuvioissa 3A on esitetty magneettiyksikkö 10 mikropartikkeleiden 22 keräämiseksi astiassa 26, kuten koeputkessa olevasta liuoksesta 23. Suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13 on kiinnitetty tankoon 11, joka ei ole ferromagneettinen. Kuviossa 3A magneetti 13 on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella niin, että magneetin 13 etäisyys nestepinnasta 25 on h. Kuvion 3A magneetti 13 on magnetoitu magneetin 13 pituusakselin suuntaisesti. Mikropartikkelit 22 kerääntyvät tällöin astiassa 26 olevasta liuoksesta 23 magneetin 13 kummankin navan 24a ja 24b kohdalle suojakalvon 21 ulkopuolelle, sekä aivan suojakalvon 21 kärkiosaan että tangon 11 ja magneetin 13 liitoskohtaan 14. Tämä on normaali tilanne silloin kun magneetti 13 on kokonaan liuoksen 23 nestepinnan 25 alapuolella.

25

30

Kuviossa 3B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellutusmuoto, johon myös kuuluu suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13, joka on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella etäisyydellä h nestepinnasta 25. Tämä sovellutusmuoto vastaa kuvion 3A sovellutusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti 13 on magnetoitu poikittain. Kuvioista

35

3B nähdään, että mikropartikkelit 22 kerääntyvät nyt suurelle alueelle suojakalvon 21 ulkopuolelle. Edullisinta olisi kuitenkin saada kaikki mikropartikkelit 22 kerätyksi aivan magneettiyksikön 10 kärjen alaosaan. Se on erityisen edullista silloin, kun mikropartikkelit 22 halutaan siirtää pieneen nestetilavuuteen. Kuviossa 3B mikropartikkelit 22 eivät  
 5 keräännä pienelle alueelle eivätkä erityisesti suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Siksi tämä vaihtoehto ei ole erityisen edullinen silloin, kun halutaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuuksiin.

Kuviossa 4A on esitetty koeputkessa 26 olevaan liukseen 23 sijoitettu magneettiyksikkö  
 10 10 sekä mikropartikkelien 22 kerääntymisen magneettiyksikön 10 suojakalvolla 21 suojattujen magneettien 13 alaosan tuntumaan. Kuviossa 4A magneetti 13 ja molemmat magneettinavat 24a ja 24b ovat kokonaan nestepinnan 25 alapuolella. Mikropartikkelit eivät kuitenkaan keräännä muualle kuin suojakalvon 21 alaosaan, koska magneetin 13 ylänapa 24b on onnistuttu oikosulkemaan viemällä ferromagneettinen putki 12 sopivasti magneetin  
 15 13 päälle. Magneetin 13 ylänavan 24b kohdalla ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella ei ole magneettikenttää, minkä vuoksi suojakalvon 21 ulkopuolella ei havaita mikropartikkeleita 22. Kuvatulla magneettiyksiköllä 10 voidaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuuksiin vaikka magneetti 13 on kokonaisuudessaan nestepinnan 25 alapuolella ja se on kiinnitetty ei-ferromagneettiseen tankoon 11.

20 Kun kuvion 4A esittämässä tilanteessa magneetti 13 siirretään kokonaan ferromagneettien putken 12 sisään, niin magneetin 13 magneettikenttä poistuu lähes kokonaan. Mikropartikkelit 22 voidaan näin vapauttaa suojakalvon 21 pinnalta yksinkertaisesti vain viemällä magneetti 13 kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisälle. Mikropartikkeleita 22  
 25 voidaan siirtää astioista 26 toisiin suojakalvon 21 pinnalle sitoutuneena, jolloin magneetti 13 on sopivasti ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella.

Kuviossa 4B on esitetty magneettiyksikkö 10, joka vastaa kuvion 4A sovellutusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti on magnetoitu poikittain. Kuviossa 4B  
 30 poikittaissuunnassa magnetoidun magneetin 13 magneettikenttää on pienennetty ferromagneettisen putken 12 avulla. Kuvion 4B esittämässä tilanteessa magneetti 13 on enää hyvin vähän ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella. Kuviosta 4B nähdään, että poikittaissuuntaisesti magnetoidulla pitkällä magneetilla 13 ja suojaputkella 12 voidaan yksinkertaisesti konsentroida mikropartikkelit 22 aivan suojakalvon 21 alaosaan. Näin ollen  
 35 molemmissa kuvioiden 4A ja 4B on esitetty edulliset ja tehokkaat menetelmät ja laitteet mikropartikkeleiden käsittelemiseksi pienissä nestetilavuuksissa.

Kuvioissa 5A-5E on esitetty vaihteittain mikropartikkelien 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla varustetun magneettiyksikön 10 avulla liuoksesta 23. Magneetti 13 ja ferromagneettinen putki 12 ovat liikutettavissa toistensa suhteen aksiaalisesti ja magneetti 13 on magnetoitu sen pituusakselin suuntaisesti.

5

Kuvioissa 5A-5E on esitetty myös erilaisia tapoja konsentroida mikropartikkelit ferromagneettisen putken 12 ja magneetin 13 avulla aivan suojakalvon 21 alaosaan ja vapauttaa ne esimerkiksi pieniin nestetilavuuksiin.

10

Kuviossa 5A on esitetty magneettiyksikkö 10, jonka magneetti 13 on työnnetty ulos ei-ferromagneettisen tangon 11 avulla ferromagneettisesta putkesta 12, jolloin magneetin 13 magneettikenttä on pääasiassa suojakalvon 21 alaosassa. Tällöin myös mikropartikkelit 22 keräytyvät suojakalvon 21 alaosaan. Myöskään seuraavissa esimerkeissä magneettia liikuttava tanko 11 ei ole ferromagneettinen.

15

Kuviossa 5B on esitetty kuvion 5A magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on toisessa asennossa. Kuviossa 5B magneetti 13 on siirretty lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään putken pysyessä paikallaan. Tällöin osa mikropartikkeleista 22 siirtyy liuoksessa 23 suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

20

Kuviossa 5C on esitetty kuvion 5B magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisään, jolloin mikropartikkelit 22 ovat hajaantuneet liuokseen 23. Näin ollen magneettikenttä ei silloin, kun magneettia 13 liikutetaan suojakalvon 21 alaosasta ylöspäin, ole paras mahdollinen keräämään mikropartikkeleita 22 suojakalvon 21 sivuosaan. Se johtuu magneetin 13 magneettikentän ja sen magneettinapojen sijainnista ja vetovoimasta käytettävän suojakalvon 21 suhteen. Näin ollen tämä vaihtoehto on mahdollinen, muttei edullisin mikropartikkelien irrottamiseen suojakalvon 21 pinnalta. Optimoimalla mikropartikkelit 22 ja magneetin 13 liikenopeus ylöspäin voidaan kuitenkin saavuttaa hyvä lopputulos, eli mikropartikkelit jäävät aivan suojakalvon 21 alaosaan tuntumaan.

30

Kuviossa 5D on esitetty vaihtoehtoinen ja tehokas tapa irrottaa mikropartikkelit 22 hallitusti kuvion 5A magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosasta esimerkiksi pieniin tilavuuksiin. Kuviossa 5B esitetyn magneetin 13 ylöspäin tapahtuvan liikkeen asemesta kuviossa 5D liikutetaankin nyt ferromagneettista putkea 12 alaspäin. Kuviosta nähdään, että tällöin mikropartikkelit 22 eivät siirry suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

35

Kuviossa 5E on esitetty kuvion 5D magneettiyksikkö 10 siten, että ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Kuviosta nähdään, että tällöin mikropartikkelit 22 jäävät luoksessa 23 paremmin paikoilleen koeputken 26 alaosaan magneettiyksikön 10 pään läheisyyteen.

5

Kumpikaan kuviolissa 5B-5C tai kuvioissa 5d-5E esitetyistä tavoista ei kuitenkaan ole erityisen edullinen erittäin suurten mikropartikkelimassojen keräämiseen ja käsittelyyn.

10 Kuvioissa 6A-6E on esitetty vaihteittain magneettipartikkelien 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla, jossa magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12 liikutetaan ja kun magneetti 13 on magnetoitu poikittain.

15 Kuviossa 6A on esitetty magneettiyksikkö 10, jonka poikittaissuunnassa magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12, joka peittää ainoastaan pienen osan magneetista 13. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 ulkopuolelle.

20 Kuviossa 6B on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 12 on siirretty ylöspäin lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällöin suurin osa suojakalvon 21 alaosassa olleista mikropartikkeleista 22 siirtyy magneetin 13 mukana ylöspäin.

25 Kuviossa 6C on esitetty kuvion 6B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisällä. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat ympäröivään luokseen 23. Näin ollen tämä tapa ei sovi mikropartikkelien 22 konsentroimiseen suojakalvon 21 alaosaan ja siirtämiseen esimerkiksi pienen nestetiivyyteen.

30 Kuviossa 6D on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on siirretty alaspäin lähes kokonaan magneetin 13 päälle. Mikropartikkelit 22 liikkuvat samalla putken 12 mukana sopivasti alaspäin.

35 Kuviossa 6E on esitetty kuvion 6D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 peittää magneetin 13 kokonaan. Kuviosta nähdään, että tällä tavoin mikropartikkelit 22 voidaan tehokkaasti konsentroida magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Näin ollen tämä ratkaisu sopii hyvin sekä suurten

mikropartikkelimäärien keräämiseen että mikropartikkelien konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

- 5 Kuvioissa 7A-7E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti.

- 10 Kuviossa 7A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa pituussuuntaisesti magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12 niin, että se samalla venyttää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneetin 13 pään läheisyyteen venytetyn suojakalvon 21 alaosaan. Suojakalvon 21 venymisen johdosta suojakalvon 21 paksuus on samalla pienentynyt, jolloin magneettikenttä on samalla kasvanut suojakalvon 21 ohenemisen myötä.

- 15 Kuviossa 7B on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneettia 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Samanaikaisesti myös venytetty suojakalvo 21 palautuu ylöspäin. Tästä seuraa se, että ylöspäin liikkuvan suojakalvon 21 alaosaan kohdistuu edelleen riittävä magneettikenttä pitämään mikropartikkeleita 22 kerääntyneenä suojakalvon 21 päälle.

- 25 Kuviossa 7C on esitetty kuvion 7B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisälle ja mikropartikkelit 22 ovat vapautuneet magneettikentästä. Tällä tavalla mikropartikkelit 22 voidaan hyvin konsentroida suojakalvon 21 alaosaan ja siirtää edelleen pieneen nestetilavuuteen.

- 30 Kuviossa 7D on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alaspäin magneetin 13 päälle. Magneetti 13 ei liiku vaan pitää suojakalvon 21 edelleen venytettynä. Magneettikenttä on suojakalvon venytyksestä johtuen erittäin suuri ja mikropartikkeleita 22 pysyvät erittäin hyvin kiinni suojakalvossa 21.

- 35 Kuviossa 7E on esitetty kuvion 7D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin magneettikenttä poistuu ja mikropartikkelit 22 vapautuvat nesteeseen 23. Tämä tapa soveltuu erittäin hyvin konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

Kuvioissa 8A-8E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu poikittain.

- 5 Kuviossa 8A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa poikittais suunnaltaan magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12 niin, että se samalla venyttää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneetilla 13 venytetyn suojakalvon 21 ympärille erittäin suurelle alueelle.
- 10 Kuviossa 8B on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneettia 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Kun magneettia 13 liikutetaan ylöspäin, niin venytetty suojakalvo 21 palautuu samalla alkuperäiseen muotoonsa eli magneetin 13 mukana ylöspäin, Mikropartikkelit 22 liikkuvat mukana ja koko mikropartikkelimassa voidaan konsentroida pienelle alueelle suojakalvon 21 kärkiosa.
- 15 Kuviossa 8C on esitetty kuvion 8B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan ferromagneettisen putken 12-sisälle. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat magneettikentästä liuokseen 23.
- 20 Kuviossa 8D on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alaspäin magneetin 13 päälle. Magneettipartikkelit 22 voidaan tässä, kuten kuvioissa 8B ja 8C kerätä suuresta näytetilavuudesta ja konsentroida pienelle alueelle suojakalvon kärkiosa.
- 25 Kuviossa 8E on esitetty kuvion 8D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin magneettikenttä poistuu ja mikropartikkelit 22 vapautuvat magneettikentästä liuokseen 23.
- 30 Kuvioissa 9A-9G on esitetty vaiheittain magneettiyksikön 10 käyttömenetelmä suuren mikropartikkelimassan keräämiseksi suuresta nestetilavuudesta ja mikropartikkelien konsentroiminen pieneen tilavuuteen.
- 35 Kuviossa 9A on esitetty astia 26a, jossa mikropartikkelit 22 ovat nesteessä 23 suuressa tilavuudessa.
- Kuviossa 9B on esitetty keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10, joka on sijoitettu kuvion 9A astiaan 26. Magneettiyksikön 10 avulla mikropartikkelit 22 siirretään liuoksesta 23a

magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 pinnalle. Kuvion 9B magneettiyksikössä 10 on venymättömällä suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13, joka on magnetoitu poikittain. Tällaisella magneettiyksiköllä 10 mikropartikkelit 22 saadaan kerätyksi suurelle alueelle suojakalvon 21 pinnalle.

5

Kuviossa 9C on esitetty toinen astia 26b, jossa on pieni tilavuus nestettä 23b. Tähän astiaan 26b siirretään kuvion 9A astiasta 26a magneettiyksiköllä 10 kerätyt mikropartikkelit 22. Kuviossa 9C esitetty astia 26b on mitoiltaan ja nestetilavuudeltaan sopivasti valittu käytettäväksi esitetyn magneettiyksikön 10 kanssa.

10

Kuvioissa 9D-9F on esitetty vaihteittain suuresta tilavuudesta kerättyjen mikropartikkelien 22 vapauttamisprosessi pieneen tilavuuteen.

15

Kuviossa 9D on esitetty astiaan 26b upotettu magneettiyksikkö 10. Tällöin on saavutettu se tavoite, jonka mukaan upotettaessa magneettiyksikkö 10 nesteeseen 23b pienen nestetilavuuden nestepintaa saadaan sopivasti nostetuksi yli sen rajan, johon ylimmillään mikropartikkeleja 22 on kerätty kuvion 9B esittämästä suuresta astiasta 26a.

20

Menetelmässä käytetään hyväksi sitä, että nesteeseen upotettuna kappale syrjäyttää tilavuutensa verran nestettä. Kun käytetään sopivan mallista ja muotoista astiaa-sekä siihen kooltaan ja muodoltaan sopivaa magneettiyksikköä, niin nesteen pinta astiassa nousee juuri halutulle korkeudelle. Olennaista tällöin on se, että partikkelit jäävät nestepinnan alapuolelle.

25

Kuviossa 9E on esitetty kuvion 9D magneettiyksikkö 10 tilanteessa, jossa ferromagneettista putkea 12 liikutetaan alaspäin. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat suojakalvon 21 pinnalta ylhäältä lähtien alaspäin.

30

Kuviossa 9F on esitetty kuvion 9E magneettiyksikkö 10 seuraavassa tilanteessa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle ja putken 12 ulkopuolella ei enää ole magneettikenttää pitämään mikropartikkeleita 22 kiinni suojakalvon 21 pinnalla. Mikropartikkelit 22 on nyt kokonaan vapautettu ympäröivään nesteeseen 23b.

35

Kuviossa 9G on esitetty tilanne, jossa magneettiyksikkö 10 on siirretty pois astiasta 26b, jolloin nestepinta on laskenut takaisin lähtötilanteeseen. Toimenpiteen lopputuloksena suuri mikropartikkelimassa on voinut siirtää tehokkaasti ja yksinkertaisesti pieneen tilavuuteen, kuten on esitetty kuviossa 9G. Tästä voidaan jatkaa konsentrointia edellä

esitettyyn tapaan tai edellisissä kuvioissa esitettyjä menetelmiä käyttäen. Mikropartikkelien 22 siirtoja ja konsentrointivaiheita voidaan tehdä sopivasti eri tavoin tarpeen mukaan.

- Kuviossa 10 on esitetty esimerkki käsin käytettävästä, keksinnön mukaisesta
- 5 mikropartikkelien siirtolaitteesta 30. Siirtolaitteeseen 30 kuuluu runkoputki 31, sen jatkeena oleva soviteholkki 32 ja keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10 siirtolaitteen päässä. Magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, tanko tai siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja jäykkä suojakaivo 21 palnattuna soviteholkin 32 päälle.
- 10 Magneettiyksikön 10 magneettia 13 liikuttava ei-ferromagneettinen tanko 11 ulottuu siirtolaitteen 30 yläosaan asti, jossa se on liitetty magneetin siirtoluistiin 37. Tätä siirtoluistia 37 liikutetaan käsin magneetinsiirtotapin 38 avulla, joka työntyy runkoputken 31 seinästä ulos pitkänomaisen aukon 39 kautta. Magneetinsiirtotappia 38 voidaan työntää ylöspäin ja alaspäin aukossa 39, jolloin siirtoluisti 37 ja sen mukana myös tanko 11 ja magneetti 13
- 15 liikkuvat ylöspäin ja alaspäin.

- Edelleen mikropartikkelien siirtolaitteessa 30 on myös mekanismi ferromagneettisen putken 12 liikuttamiseksi aksiaalisuunnassa. Mekanismin kuuluu putken siirtoyksikkö 34 ja putkensiirtotappi 35, joka myös työntyy runkoputken 31 läpi toisesta pitkänomaisesta
- 20 aukosta 36. Myös putkensiirtotappia 35 voidaan työntää ylöspäin ja alaspäin aukossa 36, jolloin putken siirtoyksikkö 34 ja samalla myös ferromagneettinen putki 12 liikkuvat ylöspäin ja alaspäin.

- Mikropartikkelien siirtolaitetta 30 pidetään kädessä siten, että sormella voidaan helposti
- 25 liikuttaa sekä magneetinsiirtotappia 38 että putkensiirtotappia 35.

- Kuviossa 11 on esitetty eräs esimerkki käsin käytettävästä mikropartikkelien monikanavasirtolaitteesta 40, jonka magneettiyksikköryhmään 41 kuuluu kahdeksan keksinnön mukaista magneettiyksikköä 10. Magneettiyksikköryhmän 41 magneettiyksiköt
- 30 10 sijaitsevat rivissä. Jokaisessa magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja suojakaivo 21. Kuvion 11 esittämässä esimerkissä ei ole esitetty mekanisme magneettiyksiköiden 10 ferromagneettisten putkien 12 liikuttamiseksi ylöspäin ja alaspäin, kuten edellisessä esimerkissä. Kuviossa on esitetty esimerkin vuoksi ainoastaan yksinkertainen mekanismi magneettiyksiköiden 10 kaikkien kahdeksan
- 35 magneetin 13 liikuttamiseksi samanaikaisesti.

Kuviossa 11 magneettiyksiköiden 10 magneettien 13 mekanismin kuuluu yhdystanko 43, johon kaikkien magneettien 13 tangot 11 on liitetty. Monikanavasiiirtolaitteen 40 magneetteja 13 liikutetaan alaspäin ja ulos ferromagneettisista putkista 12 painamalla sormella osittain siirtolaitteen ulkopuolella olevasta "liipasimesta" 46, joka on välitangon 45 välityksellä liitetty magneettien 13 yhdystankoon 43. Magneetit 13 palautuvat takaisin yläasentoonsa yhdystankoon 43 liitettyjen palautusjousien 44 avulla.

Erään mikropartikkellen monikanavasiiirtolaitteen 40 sovellutusmuodon mukaan kaikki magneetit samanaikaisesti, vaan että tarvittaessa voidaan lukita osa magneeteista 13 haluttuun asentoon. Lisäksi eri magneettiyksiköissä 10 voi olla mekanismi, jonka avulla myös ferromagneettisia putkia voidaan liikuttaa ylöspäin ja alaspäin.

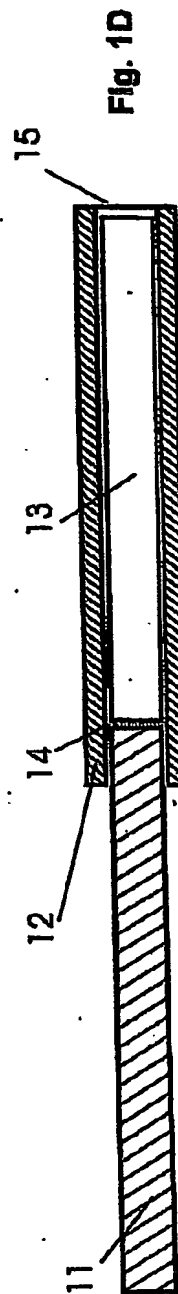
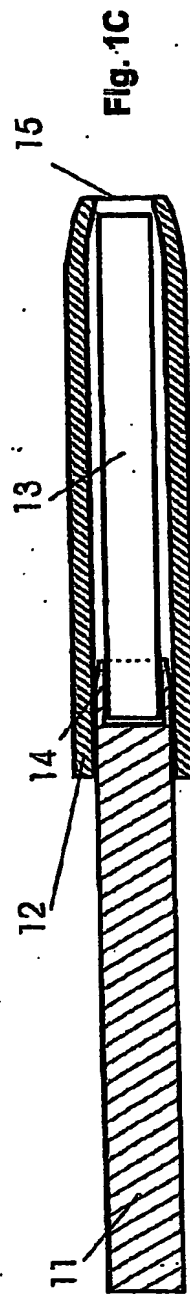
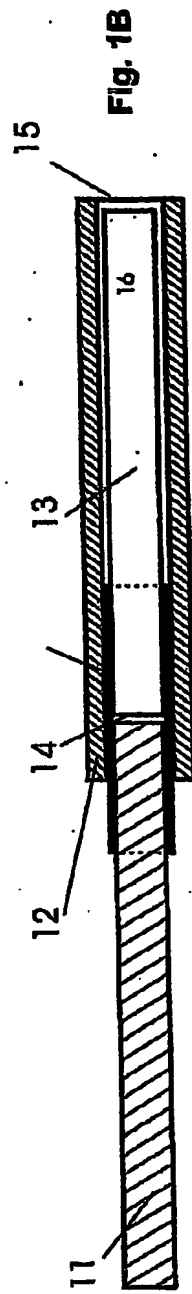
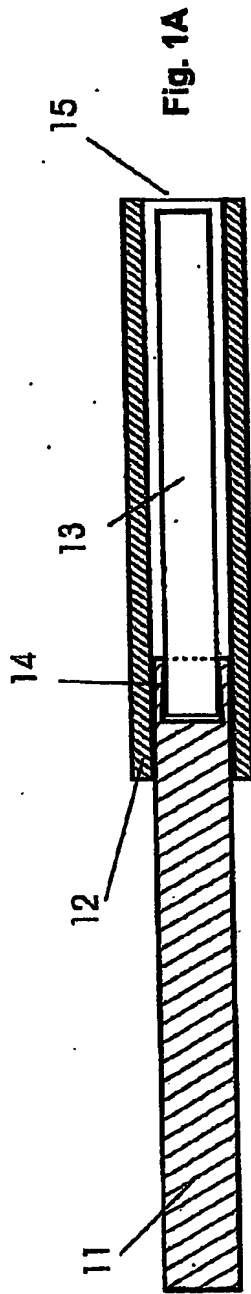
Kuviossa 12 on esitetty mikropartikkellen siirtolaitteautomaatti 50, jossa on keksinnön mukaisia magneettiyksiköitä rivissä tai kuviossa 12 esitetyn mukaisessa  $n \times m$  matriisissa 51. Magneettiyksiköt 10 ovat kiinni kontrolliyksikössä 52, jossa on tarvittava mekaniikka magneettien että ferromagneettisten putkien siirtämiseen pystysuunnassa. Kontrolliyksikkö 52 voi sekä liikkua ylöspäin ja alaspäin nuolen 54 suunnassa ja/tai nuolen 53 mukaisesti sivusuunnassa. Magneettiyksiköiden alle tason 57 päälle sijoitetaan näytelevy 55 joko manuaalisesti tai laboratoriorobotin avulla. Näytelevyssä 55 on näytekaivoja joko yhdessä rivissä tai matriisissa 56 kuten kuviossa 12 nähdään. Automaattiin 50 kuuluu vielä toinen kontrolliyksikkö 58, joka hoitaa siirtologiikan ja sisältää kaiken tarvittavan elektronikan automaatin toimilaitteiden ohjaamiseksi ja vuorovaikutuksen hoitamiseksi muiden laboratoriolaitteiden kanssa.

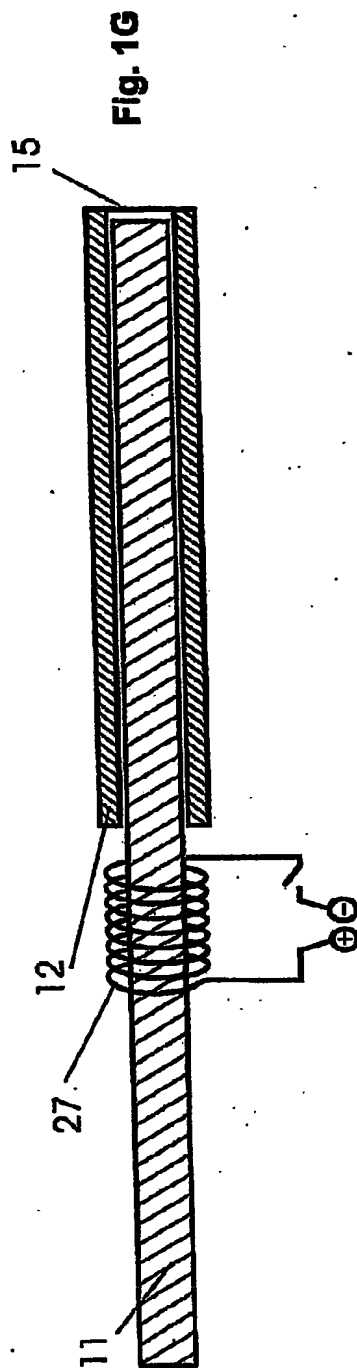
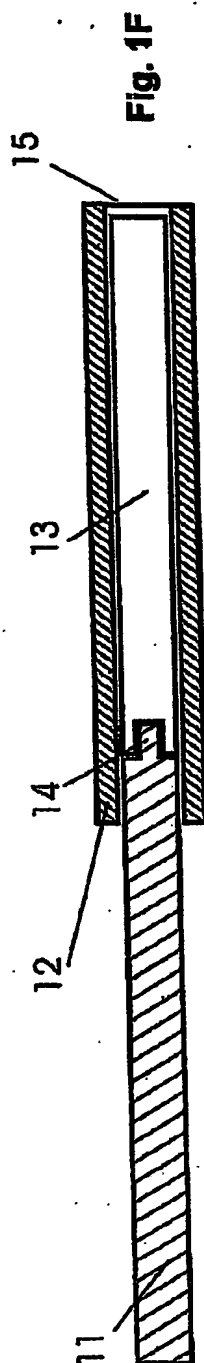
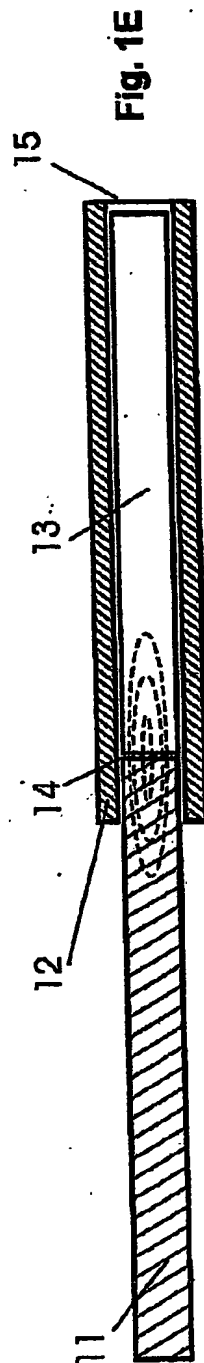
Yllä mainitut keksinnön suoritusmuodot ovat vain esimerkkejä keksinnön mukaisen idean toteuttamisesta. Alan ammattimiehelle on selvää, että keksinnön erilaiset suoritusmuodot voivat vaihdella jäljempänä esitettävien patenttivaatimusten puitteissa.

## VIITENUMEROLUETTELO

- 10 magneettiyksikkö
- 11 tanko
- 5 12 ferromagneettinen putki
- 13 magneetti
- 14 liitoskohta
- 15 suuaukko
- 16 liitosputki
- 10 17 magneettikenttää kuvaavat viivat
- 18 magneettikentän keräysalue
- 19
- 20 keräyspinta
- 15 21 suojakalvo
- 22 mikropartikkelit
- 23 luos
- 24 magneetin napa
- 25 nestepinta
- 20 26 astia
- 27 käämi
- 28
- 29
- 25 30 mikropartikkellen siirtolaite
- 31 runkoputki
- 32 soviteholkki
- 33
- 34 putkensiirtoyksikkö
- 30 35 putkensiirtotappi
- 36 pitkänomainen aukko
- 37 magneetin siirtoluisti
- 38 magneetin siirtotappi
- 39 pitkänomainen aukko
- 35
- 40 mikropartikkellen monikanavasirtolaite
- 41 magneettiyksikköryhmä

- 42
- 43 yhdystanko
- 44 palautusjousi
- 45 välitanko
- 6 46 "liipasin"
- 47
- 48
- 49
- 10 50 automaatti
- 51 matriisi
- 52 kontrolliyksikkö
- 53 nuoli
- 54 nuoli
- 15 55 näytelevy
- 56 matriisi (toisen kerran)
- 57 taso
- 58 (toinen) kontrolliyksikkö
- 59
- 20 59
- 60





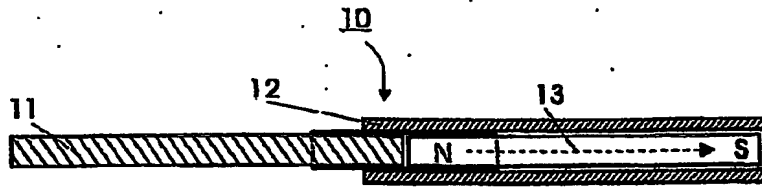


Fig. 2A

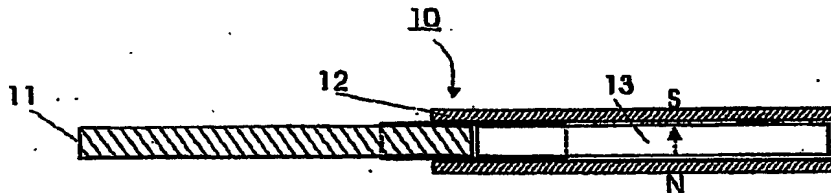


Fig. 2B

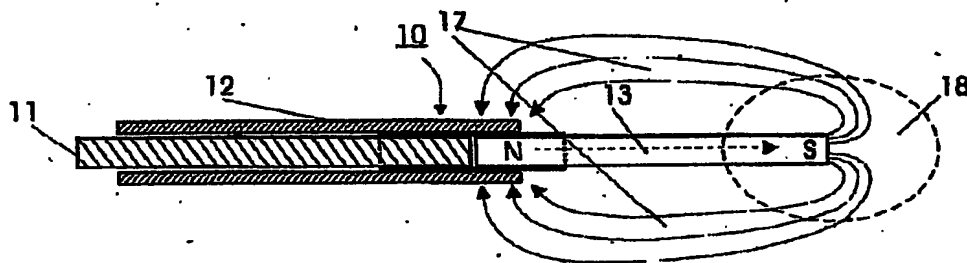


Fig. 2C

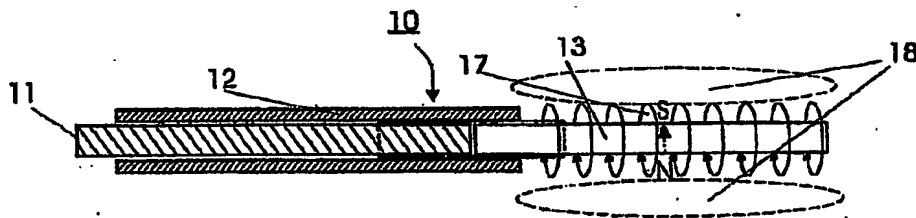


Fig. 2D

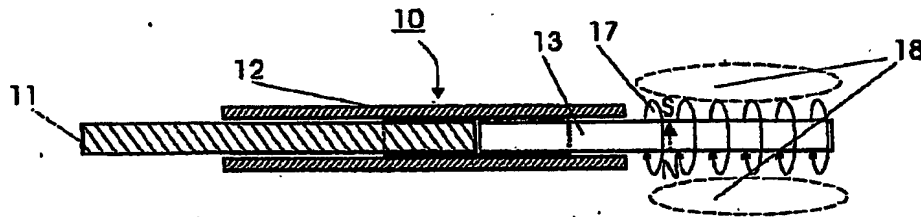


Fig. 2E

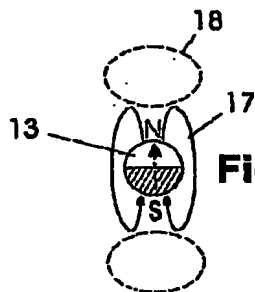


Fig. 2F

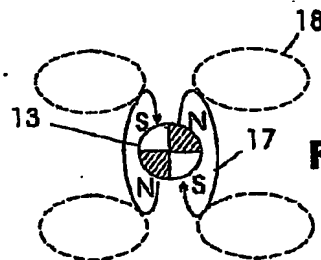


Fig. 2G

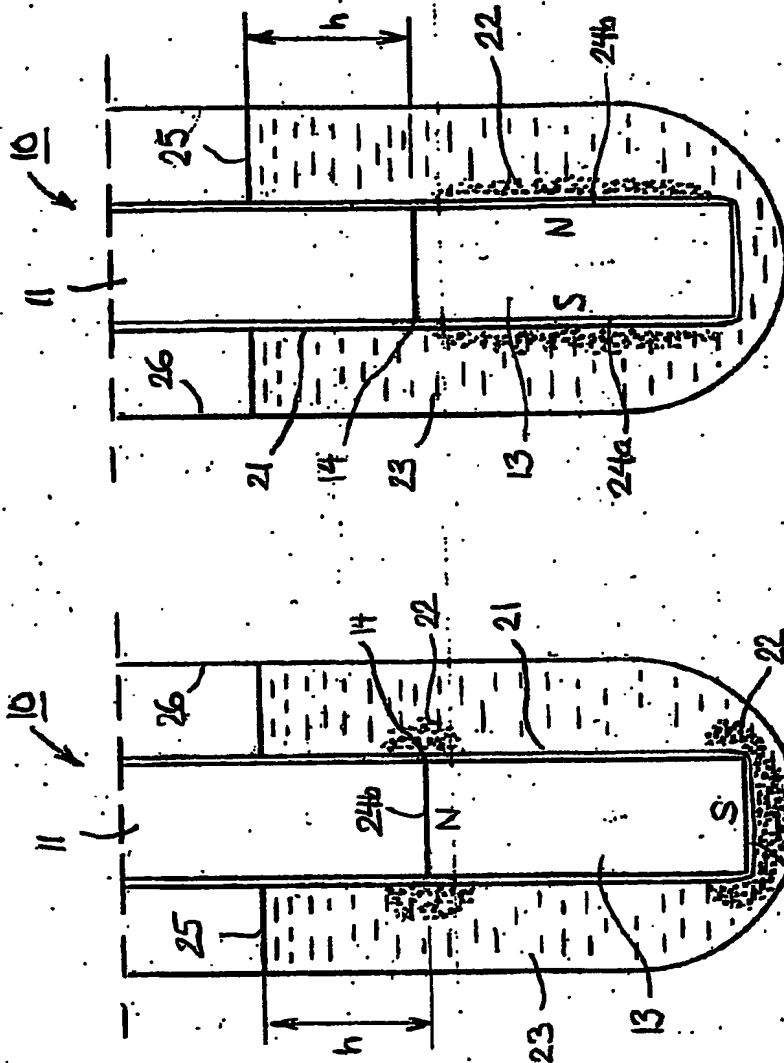


FIG. 3B

FIG. 3A

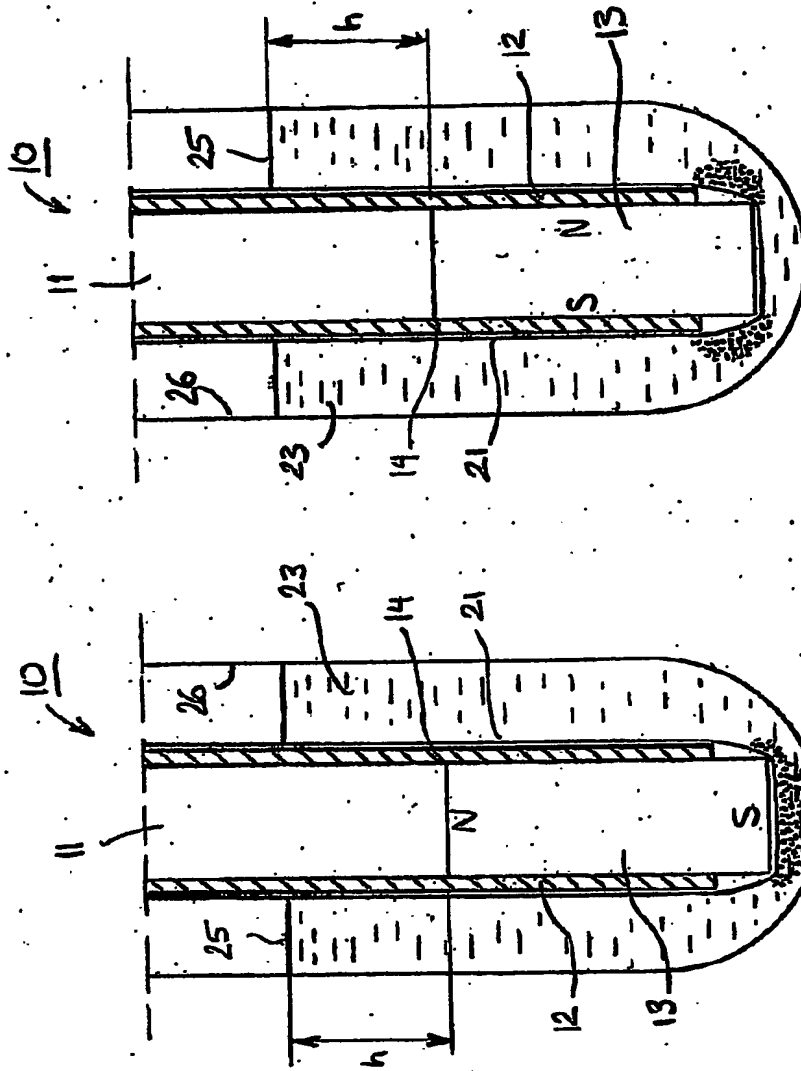


FIG. 4B

FIG. 4A

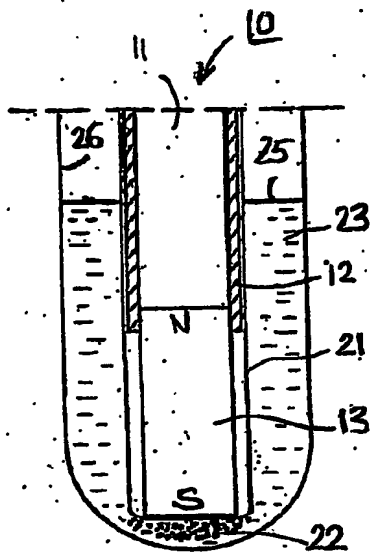


FIG. 5A

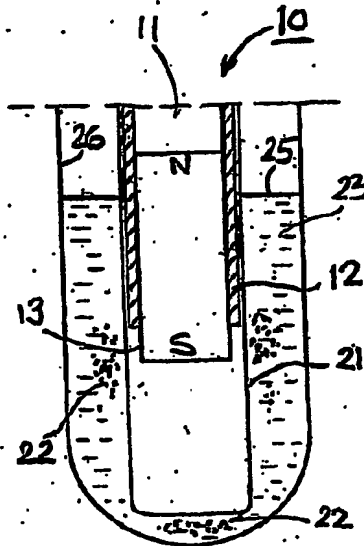


FIG. 5B

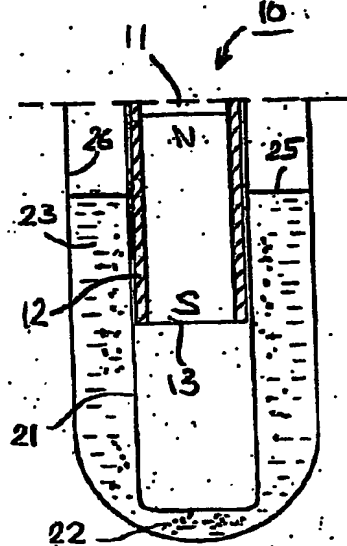


FIG. 5C

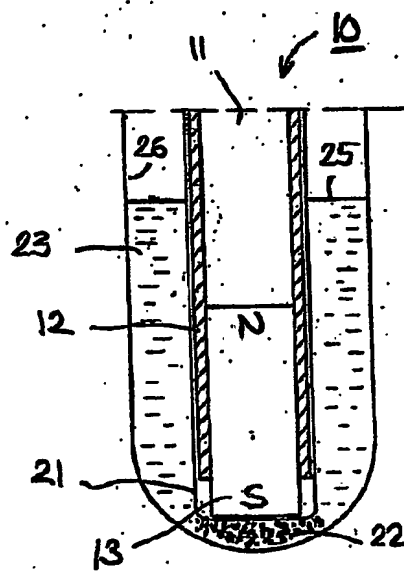


FIG. 5D

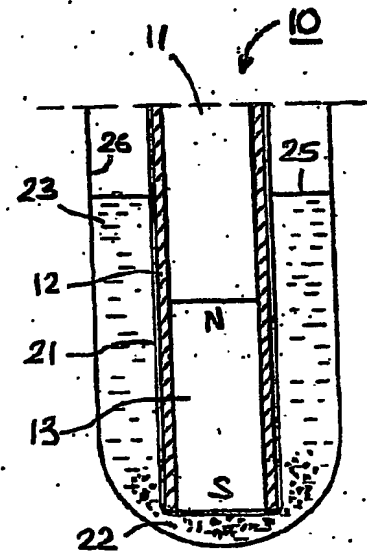


FIG. 5E

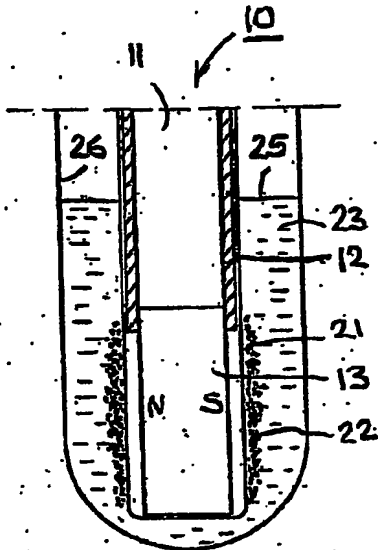


FIG. 6A

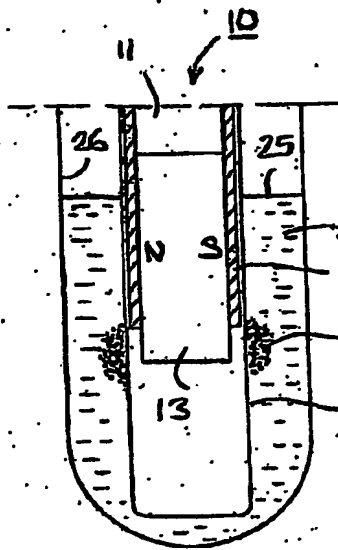


FIG. 6B

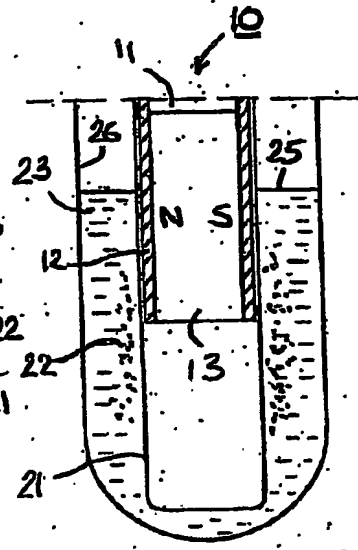


FIG. 6C

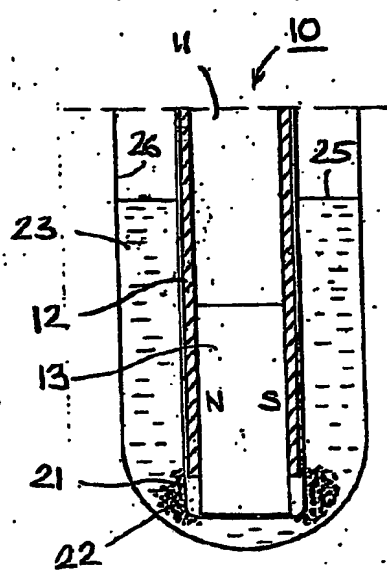


FIG. 6D

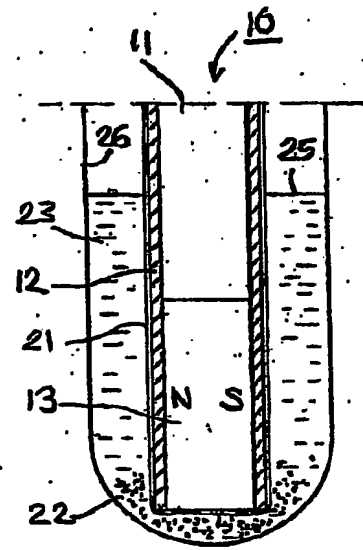


FIG. 6E

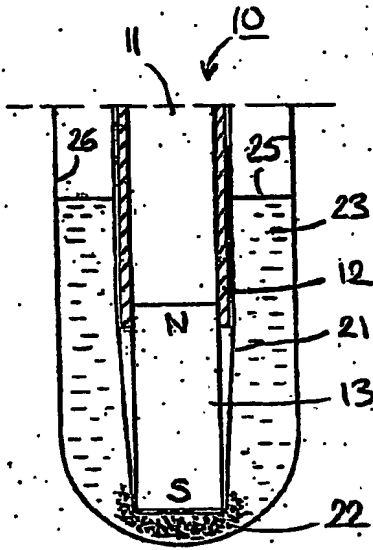


FIG. 7A

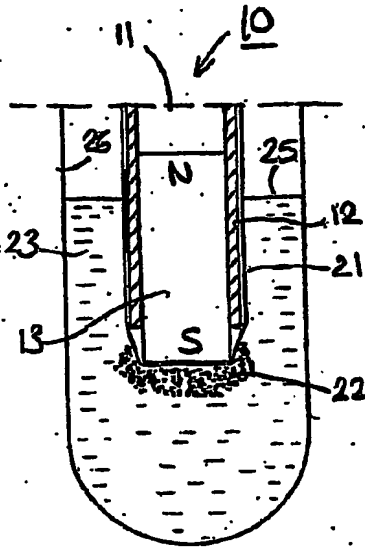


FIG. 7B

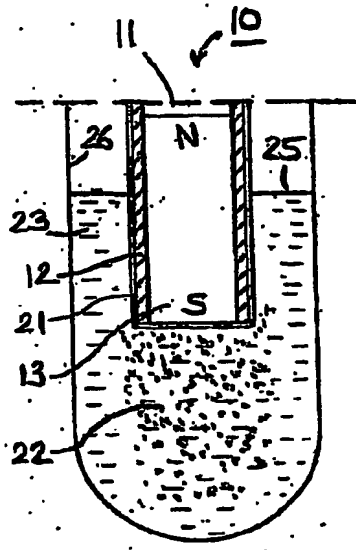


FIG. 7C

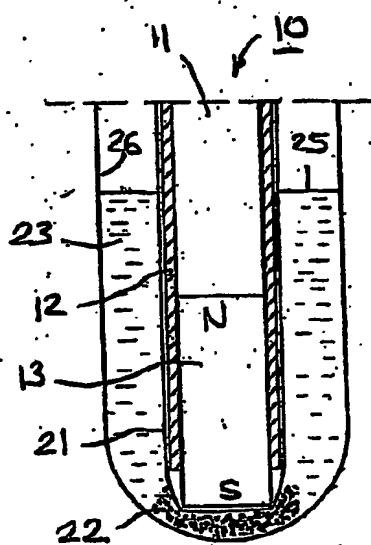


FIG. 7D

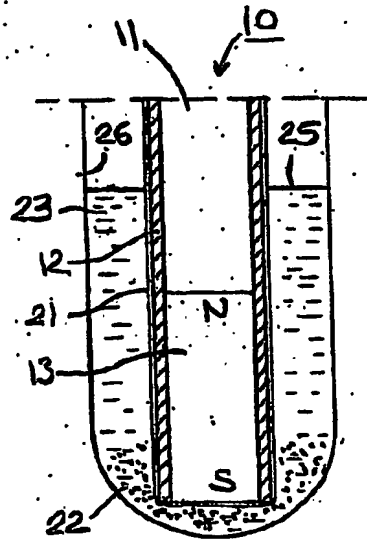


FIG. 7E

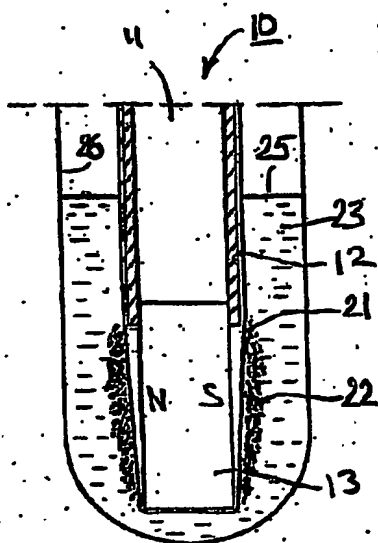


FIG. 8A

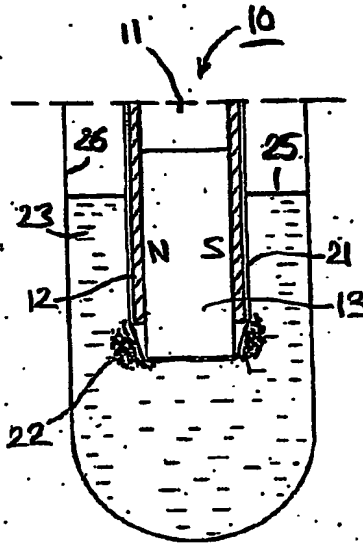


FIG. 8B

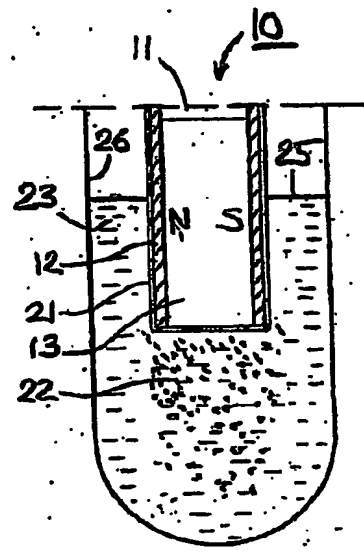


FIG. 8C

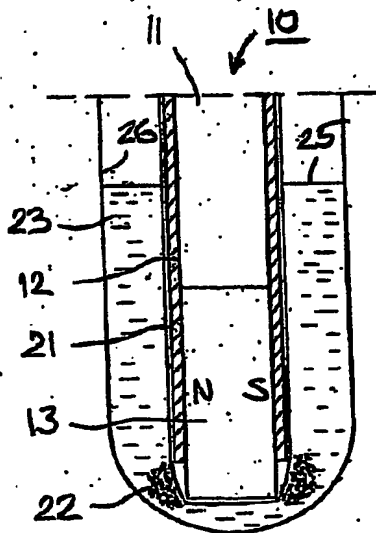


FIG. 8D

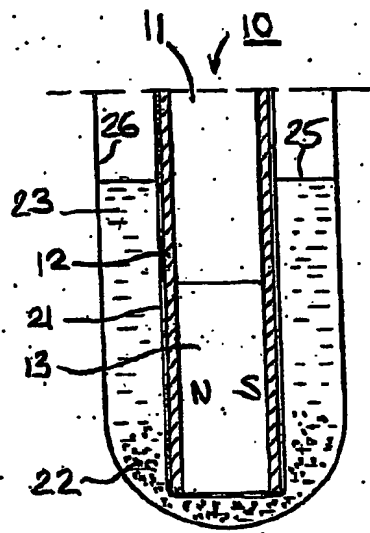


FIG. 8E

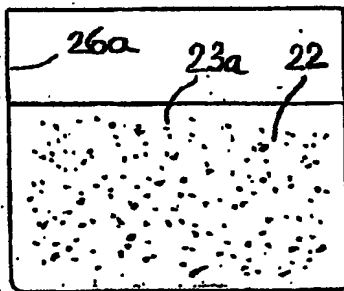


FIG. 9A

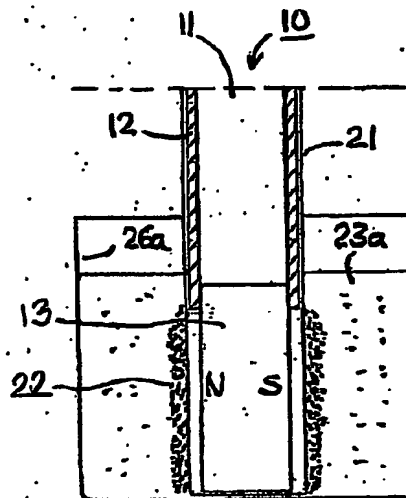


FIG. 9B

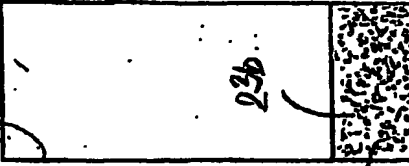


FIG. 9C

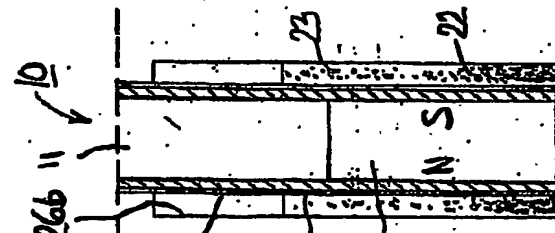


FIG. 9D

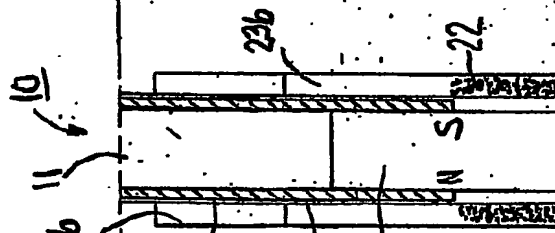


FIG. 9E

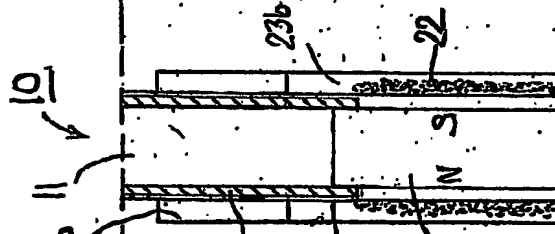


FIG. 9F

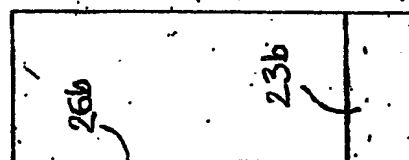


FIG. 9G

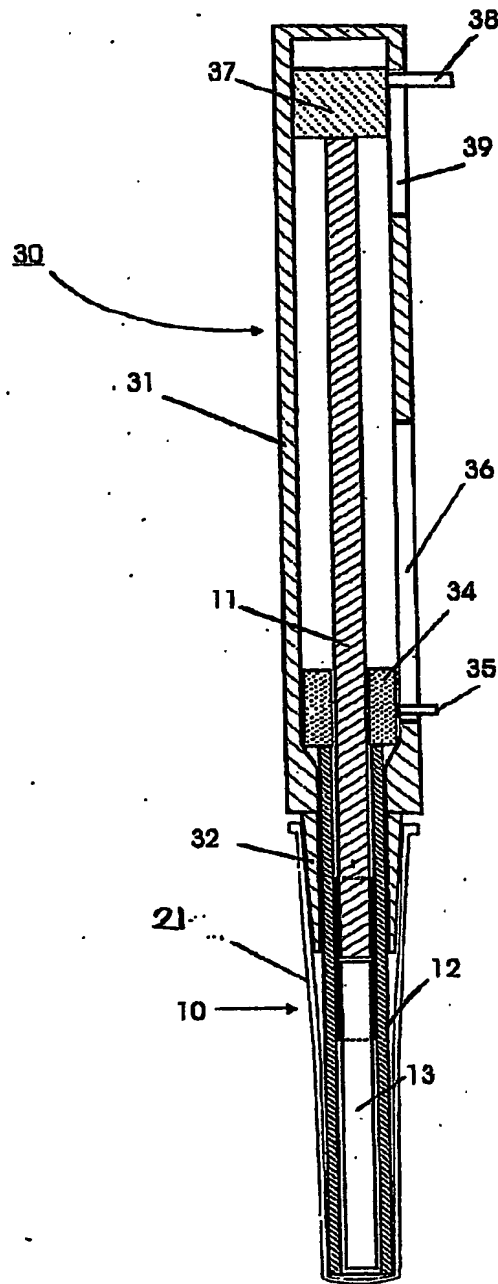
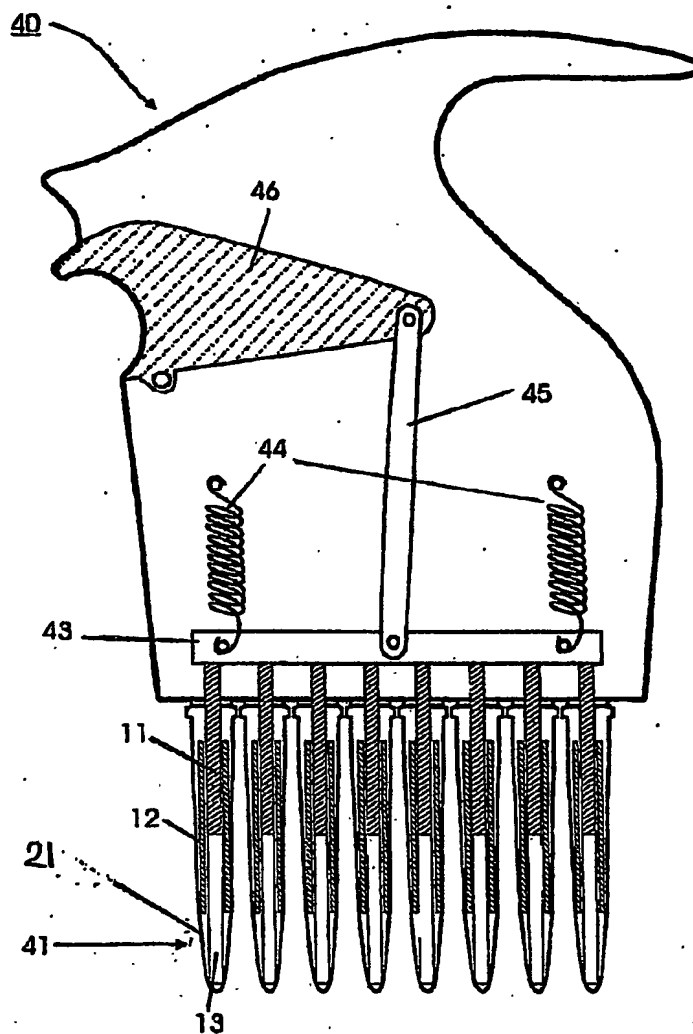
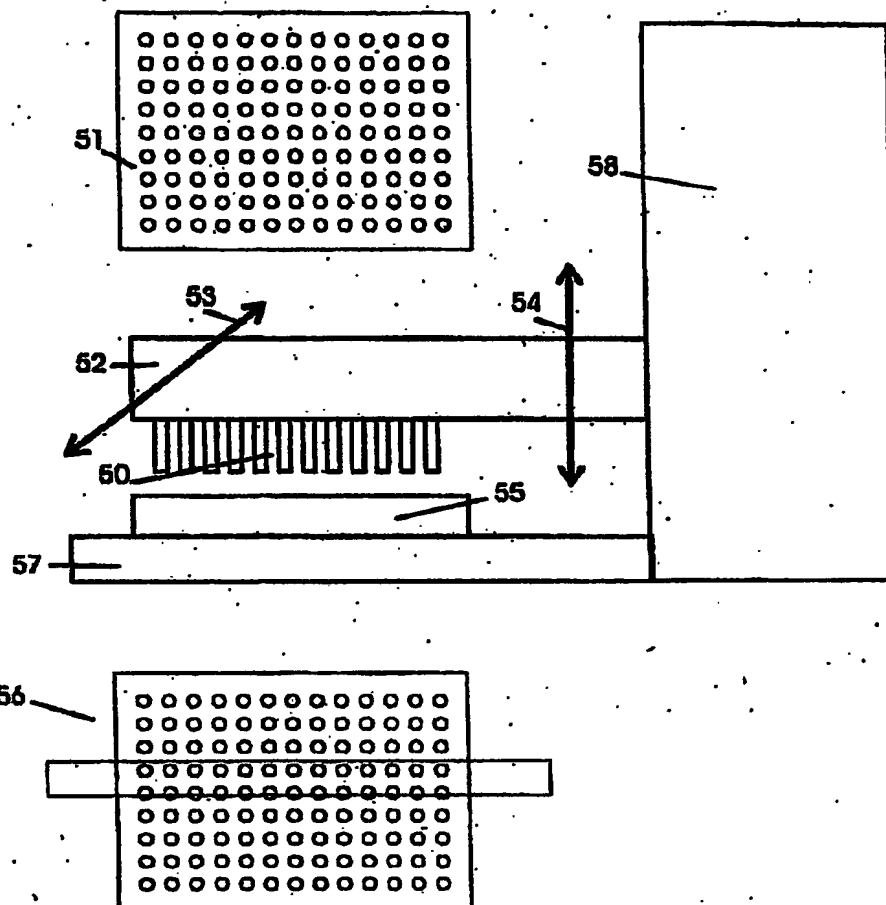


Fig. 10

**Fig. 11**



**Fig. 12**

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**